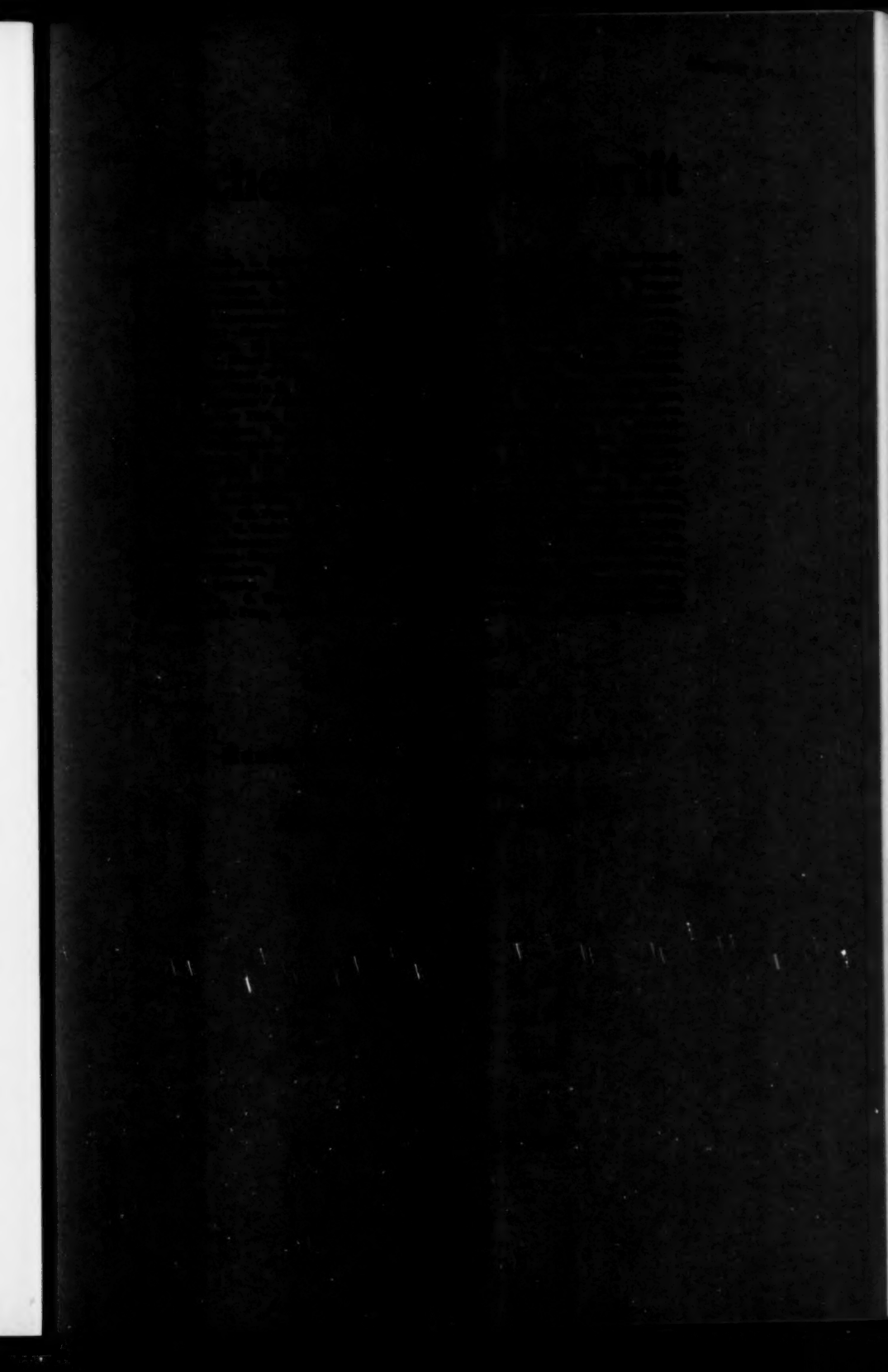
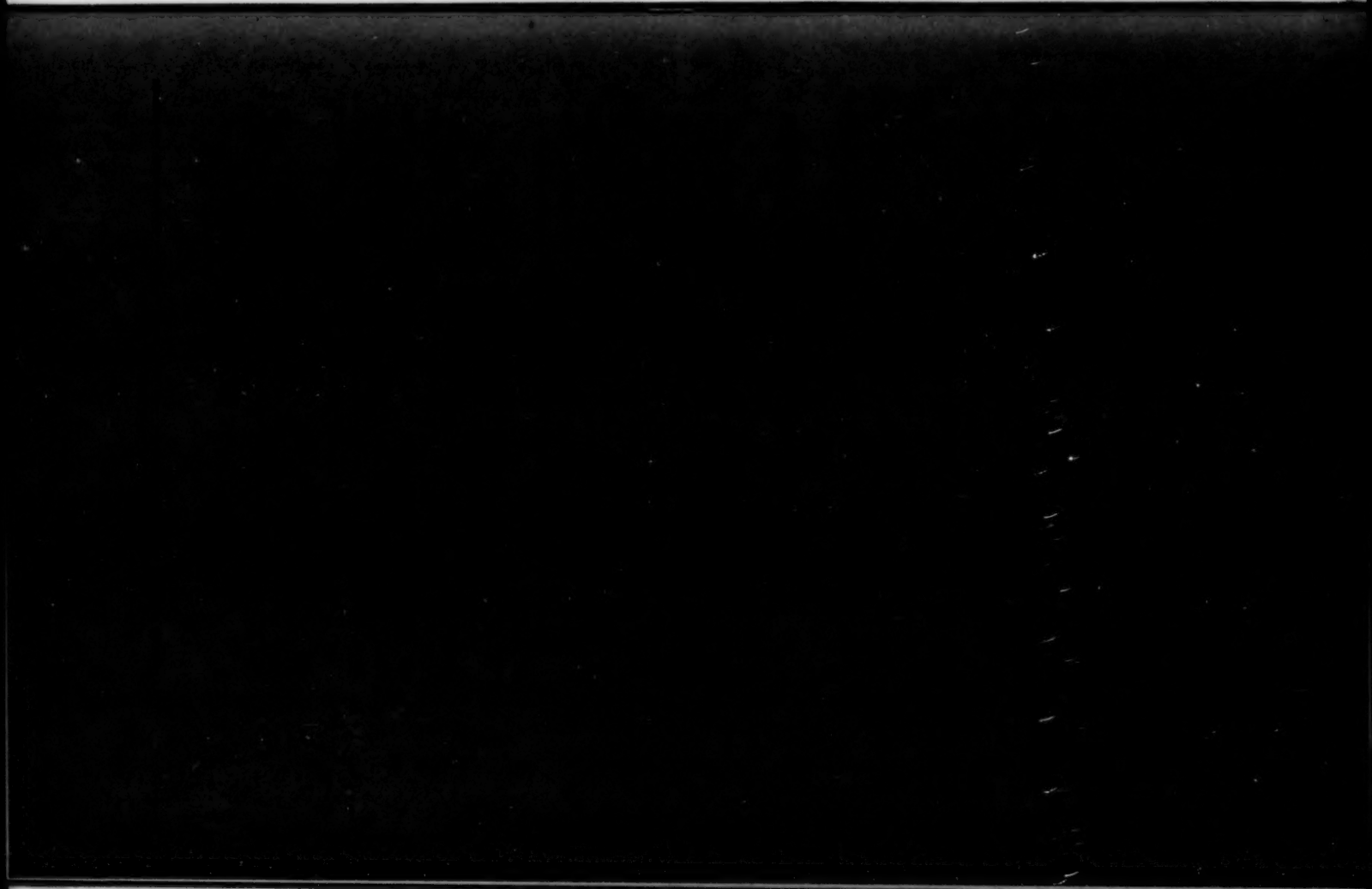




Fermente und Licht. IX.
Diastase. IV.

Von

Ludwig Pincussen.

(Aus der biochemischen Abteilung des städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 11. Februar 1926.)

Nach der Theorie, welcher die größte Wahrscheinlichkeit zukommt, bestehen die Fermente aus einer spezifischen Komponente und einem kolloidalen Körper mit großer Oberflächenentwicklung. Es scheint nun, daß die Wirkung der Strahlung auf ein Ferment zum wesentlichen Teile davon abhängig ist, wieviel einer kolloiden Substanz in dem Fermentpräparat enthalten ist. Je mehr ein Ferment gereinigt ist, d. h. um so mehr ihm seine Begleitstoffe entzogen werden, desto empfindlicher ist es gegen Licht. Das konnte an Präparaten der Pankreasdiastase (1) gezeigt werden, welche nach dem Verfahren von *Willstätter* einer fortschreitenden Reinigung unterzogen worden waren. Daß die Lichtwirkung sich speziell gegen den einen Teil des Fermentpräparates richtet, während der andere unbeeinflußt bleibt, kann aus Versuchen erschlossen werden, welche in Gemeinschaft mit *Kato* (2) an der Sojaurease angestellt wurden; durch nachträgliches Zufügen des einen Teiles gelang es, die Fermentwirkung belichteter Urease zum Teil wieder herzustellen. Aus alledem scheint sich zu ergeben, daß die Lichtwirkung besonders gegen gewisse kolloide Begleitstoffe bzw. Teilstoffe des Ferments gerichtet ist; sie tritt am intensivsten bei gereinigten Fermenten in die Erscheinung, indem hier das Fermentkolloid wahrscheinlich dem Einfluß der Strahlen in noch höherem Maße freiliegt als bei solchen Lösungen, die durch Begleitstoffe in höherem Grade verunreinigt sind.

In dieser Mitteilung soll über Versuche berichtet werden, in welchen die Reaktivierung eines belichteten Diastasepräparats durch nachträgliche Zugabe des frischen Präparats geprüft wurde.

Die zum Versuch benutzte Diastase war ein Präparat des Handels, Malzdiastase puriss. von *Merck*. Sie enthält also ein verhältnismäßig wenig gereinigtes Ferment und eine Reihe von Beimengungen, die wohl das Ferment in gewissem Sinne gegen Licht schützen, für den in Frage stehenden Versuch jedoch irrevelant sein dürften. Die Versuche sind ausschließlich mit einer 0,1 proz. Lösung dieses Diastasepräparats in Wasser angestellt. Die Bestrahlung der Lösungen erfolgte mit einer Quarzlampe von *Heraeus* mit Amalgamfüllung nach *Arons*, 220 Volt. Die zu belichtenden Lösungen befanden sich in Quarzkölbchen 20 cm von der Lampe entfernt, die unbelichteten Lösungen gegen Strahlung geschützt im gleichen Raume. Als Substrat diente lösliche Stärke in 1 proz. Lösung, der durch Zusatz von m/3 Phosphat das erforderliche p_H erteilt wurde. Die Stärkespaltung wurde an der Maltosebildung gemessen; es wurde ebenso wie in den früheren Arbeiten das Titrationsverfahren von *Willstätter* und *Schudel* benutzt.

Es wurde zunächst geprüft, ob eine Mischung belichteter und unbelichteter Diastase besser wirkt als die Summe der verwandten, für sich geprüften Diastasemengen.

Versuch 1. 15 ccm 1 proz. Lösung löslicher Stärke + 2 ccm m/3 Phosphat, p_H 6,24, + 1 bzw. 2 ccm 0,1 proz. Diastaselösung: 1. unbelichtet, 2. 30 Minuten ohne Puffer in 20 ccm Entfernung mit Quecksilberamalgamlampe bestrahlt.

Nr.	Stärke + Phosphat	Gebildete Maltose mg
1	+ 1 ccm Diastaselösung, unbelichtet	54,0
2	+ 1 „ „ belichtet	45,5
3	+ 2 „ „ unbelichtet	78,5
4	+ 2 „ „ belichtet	59,5
5	+ 2 „ Mischung, belichtet und unbelichtet . .	59,5

20 Minuten Wasserbad bei 40°.

Die Mischung aus 1 ccm unbelichteter und 1 ccm belichteter Diastase wirkt also in gleicher Weise wie 2 ccm belichteter Diastase und schwächer als man es aus der Summe der Wirkung von je 1 ccm belichteter und unbelichteter annehmen sollte.

Hier tritt also die Wirkung des Zusatzes von unbelichteter zu belichteter Diastaselösung nicht deutlich hervor; im Gegenteil ist bei der verhältnismäßig geringen Schädigung eine Besserung durch Zusatz unbelichteter Diastase nicht festzustellen.

Die Verhältnisse werden deutlicher, wenn die Schädigung der Diastase eine größere ist.

Versuch 2. Diastaselösung, 0,1 proz., Belichtung in gleicher Weise 40 Minuten, sonstige Anordnung wie oben.

Nr.	20 ccm Stärkelösung + 2 ccm Phosphat	Gebildete Maltose mg
1	+ 1 ccm Diastase, unbelichtet	51,1
2	+ 1 „ „ belichtet	12,0
3	+ 1 „ Mischung gleicher Teile	38,5

Wasserbad 20 Minuten bei 40°

Die Wirkung der Mischung ist also stärker als die Wirkung der Komponenten, die im arithmetischen Mittel 31,5 mg Maltose betragen würde.

Bei anderen Mischungsverhältnissen ergibt sich das gleiche.

Versuch 3. Diastaselösung, 0,1 proz., 1 Stunde belichtet, sonstige Versuchsbedingungen wie bei Versuch 1, Wasserbad 15 Minuten bei 40°.

Nr.	Stärke + Phosphat	Gebildete Maltose mg
1	+ 1 ccm Diastaselösung, unbelichtet	50,8
2	+ 1 „ „ belichtet	5,25
3	+ 1 „ Mischung, belichtet und unbelichtet	36,8
4	+ 1 „ „ 2 Teile unbelichtet + 1 Teil belichtet	40,5
5	+ 1 „ „ 1 Teil „ + 2 Teile „	29,7

Das eben skizzierte Verhalten zeigt sich hier noch deutlicher, indem die Mischung gleicher Teile belichteter und unbelichteter Diastase um ungefähr 30 Proz. stärker wirkt als die Komponenten allein, die Mischung von 1 Teil unbelichteter und 2 Teilen belichteter Diastase die der Einzelteile sogar um 45 Proz. übertrifft, während eine Mischung aus einer größeren Menge unbelichteter und einer kleineren belichteter nur eine verhältnismäßig geringere Mehrwirkung zeigt. Es ergibt sich also aus diesen Versuchen, daß einmal die „Reaktivierung" um so intensiver ist, je größer die Lichtschädigung war — sie war bei der geringen Schädigung bei Versuch 1 gar nicht vorhanden — und zweitens, daß die Besserung der Wirkung um so eklatanter wird, je größere Mengen belichteter Diastase in der Mischung vorhanden waren.

Im folgenden Versuch (4) wurde geprüft, ob die nachträgliche Mischung der durch belichtete bzw. unbelichtete Diastaselösungen abgebauten Stärkelösungen zu anderen Ergebnissen führt als die sofortige Mischung der Diastaselösungen und der Zusatz der Mischung zur Stärkelösung. Es wurde darum geprüft: die Wirkung der belichteten und unbelichteten Diastaselösungen und der verschiedenen Mischungen gegenüber dem Zustand, daß die der Menge der Diastase entsprechenden Quantitäten Stärkelösung zunächst, und zwar die halbe Zeit der

Gesamtwirkung durch die einzelnen Komponenten im Wasserbad verdaut und dann zusa mengegossen wurden, so daß in der zweiten Hälfte der Zeit die Mischungen wirkten. Es wurde eine 1proz. Stärkelösung unter Zusatz von 10proz. m/3 Phosphat hergestellt und von dieser Mischung 15 ccm für 1 ccm Diastaselösung angewandt. Die Proben 1 bis 4, 6 bis 8, 10 wurden 20 Minuten im Wasserbad bei 40° verdaut, die Proben 5a und b, 9a und b bleiben zuerst 10 Minuten gesondert im Wasserbad, wurden dann schnell zusammengegossen, um weitere 10 Minuten im Wasserbad zu verbleiben.

Versuch 4. Diastaselösung, 0,1proz., Belichtung 40 Minuten durch Quarzamalgamlampe. p_H 6,24.

Nr.	Fermentlösung		Stärkelösung	Gebildete Maltose
	unbelichtet ccm	belichtet ccm	ccm	mg
1	1,0	—	15	56,0
2	0,66	0,33	15	54,0
3	0,66	—	10	35,0
4	—	0,33	5	8,7
5a	0,66	—	10	53,8
5b	—	0,33	5	
6	0,33	0,66	15	46,2
7	0,33	—	5	19,2
8	—	0,66	10	8,7
9a	0,33	—	5	42,8
9b	—	0,66	10	
10	—	1,0	15	15,2

Die Analyse dieses Versuchs ergibt, daß das nachherige Zusammenbringen der anfangs allein verdauten Mischungen zwar eine leichte Minderbildung der Maltose ergibt, was sich ja ohne weiteres aus der schlechten Wirkung der belichteten Diastaselösung in der ersten Hälfte der Zeit ergibt. Immerhin wird diese Minderbildung in der zweiten Hälfte, in welcher auch unbelichtete Diastase zugegen ist, zum größten Teile wieder eingeholt. Des weiteren ergibt sich auch aus diesem Versuch, daß die Reaktivierung belichteter Diastase bedeutend stärker ausgesprochen ist in dem Falle, in welchem die Mengen der belichteten Diastase verhältnismäßig größer waren. Es genügt also von dem angewandten Handelspräparat ein verhältnismäßig geringer Teil, um die Wirksamkeit selbst größerer Mengen durch Licht inaktivierter Diastase wieder beträchtlich zu erhöhen.

Ein in gleicher Weise angestellter Versuch, nur mit dem Unterschied, daß als p_H nicht 6,24, sondern 7 gewählt wurde, verlief in ganz gleicher Weise. In diesem Versuch sind ferner noch die Wirkung von Teilquanten einerseits unbelichteter und andererseits belichteter Diastase bei anfänglicher Einzeldigestion und späterem Zusammenfügen eingereiht.

Versuch 5. Anordnung wie Versuch 4, $p_H = 7$, 0,7proz. Diastaselösung 40 Minuten belichtet, Wasserbad 24 bzw. zweimal 12 Minuten bei 40°.

Nr.	Fermentlösung		Stärkelösung	Gebildete Maltose
	unbelichtet ccm	belichtet ccm	ccm	mg
1	1,0	—	15	59,6
2	0,66	0,33	15	58,0
3	0,66	—	10	46,4
4	—	0,33	5	7,0
5a	0,66	—	10	56,8
5b	—	0,33	5	
6	0,33	0,66	15	49,8
7	0,33	—	5	11,4
8	—	0,66	10	11,4
9a	0,33	—	5	43,7
9b	—	0,66	10	
10	—	1,00	15	21,0
11a	0,66	—	10	60,5
11b	0,33	—	5	
12a	—	0,66	10	20,2
12b	—	0,33	5	

Auch hier ergibt sich also die leichte Verringerung der später zusammengegossenen Proben gegenüber den sofort mit aktivem und inaktivem Ferment beschickten. Daß diese Verringerung auf die schwächere Wirkung des allein vorhandenen belichteten Ferments zurückzuführen ist, ergibt sich einerseits aus der größeren Differenz bei dem getrennten Versuch, in welchem das belichtete Ferment in größerer Menge angewandt wurde, ferner auch daraus, daß die Einzeldigestion von Teilen unbelichteten Ferments (11) und belichteten Ferments (12) innerhalb der Fehlergrenzen dieselbe Maltosemenge ergibt, als wenn die Digestion sogleich im ganzen vorgenommen wird (1 bzw. 10).

Der Versuch 6 zeigt die Verhältnisse in noch klarerer Weise. Er wurde genau in der gleichen Art wie Versuch 5 angestellt, jedoch mit noch größeren Differenzen belichteter und unbelichteter Diastase.

Es geht aus dieser Tabelle ebenfalls hervor, daß die Aktivierungsfähigkeit unbelichteter Diastase um so intensiver sich zeigt, je größere Mengen belichteter Diastase angewandt wurden und je größer die Lichtschädigung im allgemeinen war. Es genügen also verhältnismäßig kleine Mengen, um die Spaltungsfähigkeit der belichteten Diastase erheblich heraufzusetzen. So wird bei Mischung von 0,1 ccm unbelichteter und 0,9 ccm belichteter Diastase die Maltosebildung auf das Doppelte der durch die Komponenten bewirkten heraufgesetzt. Die übrigen Erscheinungen entsprechen denen, die schon bei den früheren Versuchen hervorgehoben wurden. Es läßt sich vor der Hand nicht sagen, auf welche Begleitstoffe dieses Reaktivierungsvermögen zurück-

Versuch 6. Anordnung wie bei Versuch 4, $p_H = 7$, 0,1proz. Diastaselösung 70 Minuten belichtet, Wasserbad 24 bzw. zweimal 12 Minuten bei 40°.

Nr.	Fermentlösung		Stärkelösung	Gebildete Maltose
	unbelichtet ccm	belichtet ccm	ccm	mg
1	1,0	—	20	57,0
2	0,6	0,4	20	52,5
3	0,6	—	2	47,5
4	—	0,4	8	1,7
5a	0,6	—	12	51,0
5b	—	0,4	8	
6	0,3	0,7	20	40,5
7	0,3	—	6	19,4
8	—	0,7	14	7,0
9a	0,3	—	6	42,0
9b	—	0,7	14	
10	0,1	0,9	21	25,5
11	0,1	—	2	2,6
12	—	0,9	18	9,6
13a	0,1	—	2	23,6
13b	—	0,9	18	
14	—	1,0	20	13,2

zuführen ist; im Gang befindliche Versuche mit gereinigten Fermentpräparaten werden hier wenigstens zum Teil Aufklärung bringen.

Anhangsweise sei noch erwähnt, daß versucht wurde, die hier geschilderte Erscheinung durch Zugabe anderer Kolloide wie kolloidale Metalle, Wittepepton, ferner durch Kohle zu erreichen. Die Versuche führten zu keinem einsinnigen Resultat, so daß zunächst angenommen werden muß, daß auch die zugesetzten Stoffe eine gewisse Spezifität aufweisen müssen.

Literatur.

1) *L. Pincussen*, Fermentforsch. 8, 181, 1925. — 2) *L. Pincussen* und *N. Kato*, diese Zeitschr. **142**, 228, 1923.

Analytische Mitteilungen. IV.

Von

Ludwig Pincussen.

Mikrobestimmung von Ionen in Organen und ähnlichem Material.

Von

Georg Cronheim.

(Aus der biochemischen Abteilung des städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 11. Februar 1926.)

Während die Mikromethoden für Blut und zum Teil auch für Harn schon eine weitgehende Anwendung gefunden haben, ist bisher die Möglichkeit, Mikrobestimmungen in organischen festen Substanzen wie Tier- und Pflanzengewebe, Fäzes und dergleichen auszuführen, kaum berücksichtigt worden. Es steht außer Zweifel, daß auch für solche Materialien Mikrobestimmungen von höchstem Werte sind, weil bei ihnen die Vorteile zum Teil in noch höherem Maße wie beim Harn zur Geltung kommen. Die Mikromethodik erlaubt uns, mit außerordentlich kleinen Mengen der Organe usw. auszukommen, was besonders beim Arbeiten mit kleinen Tieren von unschätzbarem Vorteil ist. Ferner wird die Arbeitszeit, welche bei Organanalysen besonders lang ist, erheblich abgekürzt.

Die Bestimmung der Ionen selbst entspricht naturgemäß der, welche bei den übrigen Mikromethoden eingeschlagen wird. Daher ist bei der Beschreibung der Bestimmung der Komponenten in der Asche davon abgesehen worden, die einzelnen Reagenzien nochmals genau zu beschreiben, da sie in der Mikromethodik von *Pincussen*[1]) genau aufgeführt sind.

Die Schwierigkeit und das einzige grundsätzlich Neue, über welches in dieser Arbeit berichtet wird, ist die Veraschung. Wir haben zunächst nur die feuchte Veraschung angewandt, weil sie in bezug auf die Apparatur verhältnismäßig einfach ist, auch die Ausführung nur wenig Schwierigkeit darbietet, wenn man dem ausgearbeiteten Verfahren genau folgt. Über trockene Veraschung, die freilich Platinschalen und elektrischen Ofen voraussetzt, soll später berichtet werden.

---

[1]) 3. Auflage, Leipzig 1925, Georg Thieme.

I. Veraschung.

Eine genau gewogene Menge der Untersuchungssubstanz, die 50 bis 100 mg Mineralbestandteile enthalten soll, wird in einem Mikrokjeldahlkolben mit so viel rauchender Salpetersäure übergossen, daß die Substanz davon vollständig bedeckt ist, und mindestens 1 bis 2 Stunden so belassen: darauf werden 3 ccm 30 proz. Wasserstoffsuperoxyd (Perhydrol *Merck*) zugesetzt. Nachdem die zuerst auftretende starke Gasentwicklung (Kohlenoxyd, Kohlendioxyd, Sauerstoff usw.) aufgehört hat, wird der Kolben auf einem Kjeldahlgestell vorsichtig erhitzt und die Lösung zur Trockne eingedampft; etwaige dabei auftretende Entzündungen schaden nichts. Man läßt abkühlen, gibt dann von neuem 5 ccm Perhydrol und 1 bis 2 ccm Salpetersäure dazu und dampft wieder ein. Dies wird so oft wiederholt, bis der Rückstand fast weiß bzw. die Lösung fast farblos ist. Man läßt abkühlen, verdünnt mit etwa 25 ccm Wasser und dampft auf etwa 5 ccm ein. Ist die Lösung dann noch immer etwas gefärbt, so versetzt man sie mit etwas Perhydrol und kocht nochmals auf. Die Färbung verschwindet dann sicher, falls die Verbrennung vollständig war, farbgebende Ionen, z. B. Fe''', natürlich ausgeschlossen. Andernfalls muß die Lösung weiter mit Wasserstoffsuperoxyd und Salpetersäure behandelt werden. Sollte in der Lösung eine Trübung vorhanden sein, die auch beim Ansäuern mit Salzsäure nicht verschwindet, so rührt dies von unlöslichen Mineralstoffen her (Kieselsäure, Calciumsulfat usw.), die für sich verarbeitet werden müssen. Man filtriert dann die Lösung in ein Meßkölbchen von 50 ccm und füllt mit Wasser bis zur Marke auf. Mit dieser verdünnten Lösung führt man nun die Einzelbestimmungen aus.

Über die Mengen, die man dazu in den einzelnen Fällen nehmen muß, läßt sich allgemein nichts angeben. Erhält man sehr niedrige Resultate, so sind die Fehlergrenzen naturgemäß höher als bei hohen Resultaten. Andererseits besteht bei sehr hohem Gehalt immer die Möglichkeit, daß die zugesetzten Reagenzien nicht ausreichend und die Ausfällung infolgedessen nicht quantitativ war. In beiden Fällen empfiehlt es sich, die Bestimmung zu wiederholen.

Im einzelnen ist noch folgendes zu beachten: Gibt man das erste Mal Salpetersäure und Wasserstoffsuperoxyd zu, so ist es zweckmäßig, zuerst die Salpetersäure hineinzutun. Man erhält dann eine lebhafte, kurze Gasentwicklung. Macht man es jedoch umgekehrt, so wird die Substanz mit Wasserstoffsuperoxyd durchtränkt und die Salpetersäure kann nur allmählich die Masse angreifen. Da außerdem die Gasentwicklung auf und in der festen Substanz stattfindet, entstehen Aufschwemmungen und kolloidale Lösungen. Dies alles bewirkt, daß man eine sehr träge, schaumige Masse erhält, mit der es sich außerordentlich schlecht arbeiten läßt. Auf alle Fälle muß man so lange warten, bis die Gasentwicklung beendet ist, und auch dann noch zuerst sehr vorsichtig erwärmen, weil es sonst leicht vorkommen kann, daß die Flüssigkeit aus dem Glase herausschäumt. Anders ist es, wenn man die Flüssigkeit schon einmal abgedampft hat. Es ist dann besser, zuerst Wasserstoffsuperoxyd und danach Salpetersäure zuzugeben. In diesem Falle durchsetzt nämlich der nascierende Sauerstoff die ganze Flüssigkeit viel stärker als in dem anderen, wo die Gasentwicklung zum größten Teil an der Oberfläche stattfindet, und die Oxydation geht deshalb viel schneller vor sich.

II. Bestimmung der einzelnen Bestandteile.

a) Natrium.

Natrium wird mit dem *Bell*schen Reagens (Kalium-Caesium-Wismut-Nitrit) als Komplexsalz der Formel $9\,CsNO_2 . 6\,NaNO_2 . 5\,Bi(NO_2)_3$ ausgefällt und das Wismut kolorimetrisch als Wismutsulfid bestimmt. Man nimmt eine bestimmte Menge der Lösung, die höchstens 1½ mg Natrium enthalten darf, und dampft in einem großen Jenaer Zentrifugenglas auf etwa 1 ccm ein. Zu der abgekühlten Lösung gibt man etwa 6 ccm *Bell*sches Reagens (für 1 mg Natrium braucht man etwa 3 ccm), verdrängt die noch im Glase vorhandene Luft durch Einfüllen von Leuchtgas, das man durch eine vorgeschaltete, mit Wasser gefüllte Waschflasche von Schwefelwasserstoff befreit hat, und verschließt schnell mit einem Gummistopfen. Sodann stellt man das Glas in einen Eisschrank, wo es bei einer Temperatur von 0 bis 2° mindestens 24 Stunden stehen muß. Ist ein Eisschrank nicht vorhanden oder sind die Natriummengen sehr gering, so lasse man das Glas wenigstens 2 Tage stehen. Die Füllung mit Leuchtgas ist notwendig, um eine Oxydation des Nitrits durch den in der Luft vorhandenen Sauerstoff zu verhindern. Sollte sich infolge Hydrolyse bei der Zugabe des Reagens ein weißer Niederschlag von basischem Wismutsalz bilden, so gebe man noch weiter so lange Reagens dazu, bis sich der Niederschlag wieder gelöst hat.

Der gebildete Niederschlag des Natriumkomplexsalzes wird abzentrifugiert und mehrmals ausgewaschen. Als Waschflüssigkeit dient zuerst zweimal eine eisgekühlte, mit dem *Bell*schen Reagens gesättigte 50proz. Acetonlösung, sodann zweimal eisgekühltes reines Aceton und zum Schluß einmal reines Wasser. Der auf diese Weise gereinigte Niederschlag wird in 10 ccm 2 n Salpetersäure gelöst und unter mehrmaligem Nachspülen mit Wasser in einen Meßkolben von 100 ccm überführt. 5 bzw. 10 ccm dieser Lösung werden zur kolorimetrischen Bestimmung in einen Meßkolben von 25 ccm gebracht, während in einen zweiten gleichen Meßkolben 10 ccm einer Wismutstandardlösung mit einem Wismutgehalt von 0,114 mg, entsprechend 0,03 mg Natrium, gefüllt werden. Sodann kommen in jeden Meßkolben 5 ccm einer etwa 1proz. Gummiarabikumlösung und schließlich frisch bereitetes Schwefelwasserstoffwasser. Dadurch wird das in der Lösung vorhandene Wismut als braunes Wismutsulfid ausgefällt, das durch das Gummiarabikum in kolloidaler Lösung gehalten wird. Die Braunfärbungen werden dann im Kolorimeter verglichen und daraus der Natriumgehalt der Versuchslösung unter Berücksichtigung der vorgenommenen Verdünnung berechnet[1]).

b) Kalium.

Kalium wird mit Natrium-Kobalt-Nitrit als schwer lösliche Kaliumverbindung ausgefällt. Da aber Ammonsalze dieselbe Reaktion zeigen und die entsprechenden Ammoniumsalze genau so schwer löslich sind wie die des Kaliums, muß das Ammoniak, das sich bei der Veraschung stickstoffhaltiger organischer Substanzen in größerer Menge bildet, zuerst entfernt werden. Zu diesem Zwecke gibt man zu 2 ccm der verdünnten Aschenlösung in einem Zentrifugenglas so lange Natronlauge, bis die Lösung gegen Lackmus deutlich alkalisch reagiert. Braucht man hierzu eine größere

[1]) Bezüglich Herstellung der Reagenzien und weiteres Verfahren vgl. *Pincussen*, Mikromethodik, 3. Auflage.

Menge Natronlauge, so ist diese auf ihren häufig vorhandenen Kaliumgehalt zu prüfen und der gefundene Wert in die spätere Berechnung einzusetzen. Die alkalisch gemachte Lösung stellt man 2 bis 3 Minuten in siedendes Wasser, nimmt sie dann heraus und läßt abkühlen. Nach dem Abkühlen gibt man einen Tropfen m-Nitrophenol als Indikator zu und titriert so lange mit n/10 Schwefelsäure, bis die Gelbfärbung verschwindet. Aus dieser Lösung kann jetzt das Kalium ausgefällt werden. Man versetzt die Lösung mit 2 ccm Natriumkobaltnitritlösung, mischt gut durch und läßt etwa 2 Stunden stehen. Während dieser Zeit fällt das Kalium als Kaliumkobaltnitrit (Kaliumhexanitrokobaltiat) aus.

$$3\,KCl + Na_3[Co(NO_2)_6] = K_3[Co(NO_2)_6] + 3\,NaCl.$$

Nach Zugabe von etwas Wasser zentrifugiert man den Niederschlag scharf ab, gießt die überstehende Flüssigkeit vorsichtig fort, mischt mit wenig Wasser und zentrifugiert wieder. Dies wird so oft wiederholt, bis die überstehende Flüssigkeit nach dem Zentrifugieren farblos ist, was meist nach drei Malen erreicht ist. Das Waschwasser wird wieder abgegossen und 5 ccm n/50 Kaliumpermanganat und 1 ccm 20proz. Schwefelsäure zugesetzt. Das Glas wird dann 2 Minuten in siedendes Wasser gestellt. Sollte die Rotfärbung danach verschwunden sein, so gibt man unter Umrühren nochmals eine gemessene Menge n/50 Kaliumpermanganat zu, bis die Rotfärbung, auch nach Eintauchen in kochendes Wasser, bestehen bleibt. Man achte darauf, daß sich der gelbe Niederschlag vollkommen löst und daß das Glas nicht zu lange in dem Wasserbade bleibt. Man entfärbt dann die Lösung durch Zusatz einer gemessenen Menge n/50 Oxalsäure und titriert aus einer Mikrobürette mit n/50 Kaliumpermanganat, bis eine Rotfärbung auftritt, die mindestens eine Minute lang bestehen bleibt. Die im ganzen zur Oxydation zugesetzte Menge n/50 Kaliumpermanganat (die NO_2-Gruppe wird zu NO_3 oxydiert) minus der zugesetzten Menge n/50 Oxalsäure ergibt, multipliziert mit 0,142, den Kaliumgehalt der verwandten 2 ccm Lösung in Milligrammen.

c) Calcium.

Calcium wird in essigsaurer Lösung als Calciumoxalat gefällt und die Oxalsäure mit Permanganat titrimetrisch bestimmt. Um, wie es für die quantitative Fällung erforderlich ist, das gesamte Calcium in Acetat umzuwandeln, versetzt man in einem Zentrifugenglas eine bestimmte Menge der Lösung mit Ammoniak, bis kein weiterer Niederschlag entsteht, und säuert danach mit verdünnter Essigsäure wieder an, wobei sich der Niederschlag wieder völlig lösen muß. Zu der essigsauren Lösung gibt man 2 bis 3 ccm gesättigte Ammoniumoxalatlösung und läßt 1 bis 2 Stunden stehen. Danach wird der gebildete Niederschlag von Calciumoxalat abzentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit für die Magnesiumbestimmung in ein anderes Zentrifugenglas überführt. Der Niederschlag selbst wird durch Aufwirbeln mit Wasser und darauf folgendes Zentrifugieren gewaschen und das Waschwasser zur Magnesiumfraktion gefügt. Nachdem man dies zweimal wiederholt hat, löst man den Niederschlag in etwa 5 ccm verdünnter Schwefelsäure, erwärmt im Wasserbade auf 70 bis 80° und titriert aus einer Mikrobürette mit n/100 Kaliumpermanganat bis zur Rotfärbung. Den Calciumgehalt kann man daraus ermitteln, daß 1 ccm n/100 Kaliumpermanganat 0,2 mg Calcium entspricht.

d) Magnesium.

Aus der von Calcium befreiten Lösung wird das Magnesium als Magnesiumammoniumphosphat ($MgNH_4PO_4\,6H_2O$) ausgefällt und der Phosphor kolorimetrisch bestimmt. Die bei der Calciumausfällung überstehende Lösung + erstes Waschwasser überführt man in ein anderes großes, unten konisches Zentrifugenglas und versetzt mit 2 ccm einer 10proz. Lösung von Ammoniumphosphat und 3 ccm 25proz. Ammoniaks. Man überzeuge sich davon, daß die Lösung deutlich ammoniakalisch riecht, vermeide aber auch einen zu großen Überschuß von Ammoniak, weil sonst Ammoniumphosphat und Magnesiumhydroxyd mit ausfällt. Man reibt nun die Glaswände mit einem Glasstab, um die Ausfällung zu begünstigen, verschließt mit einem Kork und läßt 12 Stunden stehen. Ist sehr wenig Magnesium vorhanden, so empfiehlt es sich, die Lösung 24 Stunden stehenzulassen. Man zentrifugiert nun den gebildeten Niederschlag von Magnesiumammoniumphosphat ab und wäscht ihn durch mehrmaliges Zentrifugieren mit 2proz. Ammoniak. Als letzte Waschflüssigkeit nimmt man eine Mischung von 20 Teilen 25proz. Ammoniak und 80 Teilen 96proz. Alkohol und stellt das Zentrifugenglas danach in siedendes Wasser, bis die noch vorhandene Flüssigkeit vollständig verdampft ist. Den trockenen Niederschlag löst man in 1 ccm n/10 Salzsäure und überführt die Lösung unter mehrmaligem Nachspülen in einen Meßkolben von 50 ccm. Sollte sich der Niederschlag in der Salzsäure schwer lösen, so erwärme man das Glas etwas, gebe aber nicht mehr Salzsäure zu, weil die Acidität für die kolorimetrische Bestimmung eine sehr wichtige Rolle spielt. Spuren bleiben fast immer zurück. (Es wird sich um Verunreinigungen handeln, vielleicht Glasstaub vom Reiben der Glaswände. Jedenfalls spielt dies weiter keine Rolle.) Von der auf 50 ccm aufgefüllten Lösung füllt man 10 bzw. 20 ccm (die Menge richtet sich nach dem Magnesiumgehalt) in einen Meßkolben von 25 ccm, gibt je 1 ccm Molybdänsäure- und Hydrochinonlösung und nach einigen Minuten 1 ccm Carbonatsulfitlösung zu und füllt mit Wasser bis zur Marke auf. Die entstandene Blaufärbung wird im Kolorimeter mit der Blaufärbung einer Phosphatlösung bekannter Konzentration verglichen, die man sich auf folgende Weise herstellt: Von der auf das Zehnfache verdünnten Phosphatstandardlösung[1]) bringt man in einen 25-ccm-Meßkolben 10 ccm mit einem Phosphorgehalt von 0,1 mg und behandelt die Lösung genau so wie die Magnesiumsalzlösung. Aus der kolorimetrischen Bestimmung ergibt sich direkt der Phosphorgehalt der Magnesiumammoniumphosphatlösung, woraus sich unter Zugrundelegung der Formel $MgNH_4PO_4 . 6\,H_2O$, nach der 0,1 mg Phosphor 0,0784 mg Magnesium entspricht, der Magnesiumgehalt der Versuchslösung berechnen läßt.

e) Phosphorsäure.

Der Gesamtphosphor, der nach der Veraschung als Phosphat vorliegt, wird nach Zugabe einer Molybdänsäure-Strychninlösung, die mit dem Phosphat eine Trübung hervorruft, nephelometrisch bestimmt. Eine bestimmte Menge der stark verdünnten Aschelösung wird in einem 25-ccm-Meßkolben nach Zugabe von einigen Tropfen p-Nitrophenol bis zur gerade eintretenden Gelbfärbung neutralisiert und 5 ccm verdünnte Salpetersäure zugegeben. In einen zweiten Meßkolben derselben Größe gibt man 5 ccm

[1]) Vgl. Mikromethodik, S. 22.

der auf das Zehnfache verdünnten Phosphatstandardlösung und ebenfalls 5 ccm verdünnte Salpetersäure. Beide Kolben werden mit Wasser bis etwa 45 ccm gefüllt. Nun gibt man in jeden Kolben 2 ccm Molybdänsäure-Strychninreagens, schüttelt gut um, füllt mit Wasser bis zur Marke auf und läßt eine halbe Stunde stehen. Nach dieser Zeit werden die entstandenen Trübungen im Nephelometer verglichen und aus den gefundenen Werten der Phosphatgehalt der Versuchslösung berechnet (5 ccm der verdünnten Phosphatlösung enthalten 0,03 mg Phosphat).

Die Menge der Lösung, die man zu dieser Bestimmung nehmen soll, kann allgemein gar nicht angegeben werden. Auf jeden Fall richte man es so ein, daß der Phosphatgehalt der angewandten Versuchslösung 0,06 mg, d. h. das Doppelte wie in der Vergleichslösung, nicht übersteigt. Findet man bei der nephelometrischen Ablesung größere Differenzen, so ist die Bestimmung mit der halben Menge zu wiederholen. Übersteigt nämlich der Phosphatgehalt 0,06 mg, so ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß der bis dahin kolloidal vorhandene Niederschlag ausflockt, wodurch ein nephelometrischer Vergleich unmöglich gemacht wird.

Will man den anorganischen Phosphor getrennt von dem Lipoidphosphor bestimmen, so muß man eine genau abgewogene Menge der Ursubstanz im Soxhlet-Extraktionsapparat 8 bis 10 Stunden mit Äther extrahieren. In dem Extrakt hat man dann den Lipoidphosphor und in dem Rückstand den anorganischen Phosphor, der in der beschriebenen Weise nach vorheriger Veraschung bestimmt wird.

f) Halogene.

In der Lösung, die man bei der oben beschriebenen Veraschung erhalten hat, kann man eine Halogenbestimmung nicht vornehmen. In den meisten Fällen wird man darin gar keine Halogene finden, weil diese durch die Behandlung, der die Substanz beim Veraschen unterworfen wird, vollständig verjagt werden. Man muß deshalb für die Halogenbestimmung eine Sonderveraschung vornehmen. In einen Mikrokjeldahlkolben bringt man eine genau gewogene Menge Untersuchungssubstanz. Dazu gibt man etwas Salpetersäure und 5 ccm n/50 Silbernitratlösung. Nun wird die Veraschung in derselben Weise ausgeführt wie sonst. Das Halogen setzt sich sofort, wenn es von den organischen Bindungen gelöst wird, mit dem Silbernitrat um und bildet das unlösliche und nicht flüchtige Silberhalogenid. Nach Beendigung der Veraschung wird der mineralische Rückstand in verdünnter Salpetersäure gelöst und unter Nachspülen quantitativ in eine glasierte Porzellanschale überführt. In dieser Lösung bestimmt man, nachdem man etwas Eisenalaun [$FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O$] zugegeben hat, das unverbrauchte Silbernitrat, indem man aus einer Mikrobürette mit n/50 Ammoniumrhodanid bis zur Rotfärbung titriert. Die zur Bildung von Halogensilber verbrauchte Menge Silbernitrat ergibt, multipliziert mit 0,71, die Menge Halogen, die die Probe enthielt.

Der Faktor 0,71 stimmt genau nur für die Bestimmung von Chlor. Hat man bedeutende Mengen von Brom oder Jod, so muß man den dafür in Betracht kommenden Faktor anwenden und unter Umständen eine Trennung der verschiedenen Silberhalogenide vornehmen.

Sollte bei der Titration schon durch den ersten Tropfen Ammoniumrhodanid eine Rotfärbung entstehen, die nicht sofort wieder verschwindet, so ist dies ein Zeichen, daß die zugesetzte Menge Silbernitrat nicht ausreichend war, und die ganze Veraschung muß mit einer größeren Menge Silbernitrat wiederholt werden.

g) Beleganalysen.

Je 2 ccm Salzlösung werden mit 0,5 g reinster Glucose gemischt und die Veraschung wie oben vorgenommen.

Gesuchter Stoff	In 100 ccm Wasser gelöstes Chlorid g	Zugefügt ccm	Gehalt gefunden mg	Gehalt berechnet mg	Fehler Proz.
Natrium	0,6290	2	4,80	4,95	−3
Kalium	0,0536	2	0,546	0,562	−3
Calcium	0,0814	2	0,594	0,589	+1
Magnesium . . .	0,1088	2	0,606	0,628	−3
Chlorid	0,6290	2	7,56	7,63	−1

h) Beispiele.

Als Zahlenbeispiel soll die Analyse von gekochten Kartoffeln genommen werden. Zuerst bestimmt man den Wassergehalt als den Gewichtsverlust, den eine genau abgewogene Menge bei mehrstündigem Stehen in dem auf 100° erhitzten Trockenschrank erfährt.

Kartoffeln, feucht + Wägegläschen	15,0998 g
„ trocken + „	12,8000 g
Gewichtsverlust = Wassergehalt	2,2998 g
Wägegläschen + Kartoffeln, feucht	15,0998 g
„ leer	12,1144 g
Kartoffeln, feucht	2,9854 g
Gewichtsverlust beim Trocknen	2,2998 g
Wassergehalt der gekochten Kartoffeln	77,04 Proz.

Man trocknet nun ungefähr 15 g in derselben Weise, pulvert fein und wiegt davon auf der analytischen Wage 2 g ab, die man dann nach der angegebenen Methode verascht. Die wässerige, schwach angesäuerte Lösung wird dann, unter Umständen durch ein Filter, in einen Meßkolben von 50 ccm überführt, der dann mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt wird.

Der Natriumgehalt wurde in einer Flüssigkeitsmenge von 5 ccm bestimmt. Das ausgefällte und gereinigte Natrium-Wismut-Komplexsalz wurde aufgelöst und die Lösung auf 100 ccm aufgefüllt. Mit 10 ccm dieser Lösung, d. h. 0,5 ccm der Untersuchungsflüssigkeit, wurde der kolorimetrische Vergleich vorgenommen. Dabei ergab sich Farbengleichheit, wenn die Schichtdicke der Versuchslösung 32 cm und die der Vergleichslösung 30 cm war. Der Natriumgehalt ist dann $x = 0{,}03 \cdot \frac{32}{30} = 0{,}032$ mg Natrium in 0,5 ccm. In der Gesamtmenge von 50 ccm ist dann 0,032 . 100 = 3,2 mg Natrium = 0,16 Proz.

Zur Bestimmung des Kaliums, das in Kartoffeln in großer Menge vorhanden ist, wurde 1 ccm der Lösung, entsprechend 0,04 g Trockensubstanz, genommen. Zu dem gereinigten Niederschlag wurden dann 5 ccm n/50 Kaliumpermanganat, darauf 1 ccm n/50 Oxalsäure und bei der Titration 0,69 ccm n/50 Permanganat zugesetzt. Es wurden also im ganzen 4,69 ccm n/50 Kaliumpermanganat verbraucht, d. h. 0,04 g Trockensubstanz enthielten 4,69 . 0,142 = 0,666 mg Kalium. Der Kaliumgehalt der trockenen Kartoffeln ergibt sich daraus zu 1,67 Proz.

Der Calciumgehalt der Kartoffeln ist wesentlich kleiner; deshalb wurde das Calcium aus 5 ccm Lösung ausgefällt. Bei der Titration wurden 0,81 ccm n/100 Kaliumpermanganat zugesetzt, 0,2 g Trockensubstanz enthalten also 0,16 mg oder 0,08 Proz. Calcium.

Die von Calcium befreite Lösung wurde dann gleich weiter auf Magnesium untersucht. Das ausgefallene Magnesiumammoniumphosphat wurde in n/10 Salzsäure gelöst und auf 50 ccm aufgefüllt. Davon wurden zur kolorimetrischen Bestimmung 20 ccm, die 0,08 g Trockensubstanz entsprechen, verwandt. Aus den gefundenen Werten ergab sich dann die Gleichung $x = 0{,}1 \cdot \frac{37{,}5}{47{,}1} = 0{,}0797$ mg Phosphor. Durch Multiplikation mit 0,784 erhielt man den Magnesiumgehalt von 0,08 g Trockensubstanz, nämlich 0,0624 mg = 0,08 Proz.

Der Phosphorgehalt der Kartoffeln ist ein sehr großer, und man muß deshalb den nephelometrischen Vergleich in sehr großer Verdünnung vornehmen. 5 ccm, entsprechend 0,2 g Trockensubstanz, werden auf 100 ccm aufgefüllt und davon 10 ccm weiter genau nach der Vorschrift verarbeitet. Der nephelometrische Vergleich führte dann zu der Formel $x = 0{,}03 \cdot \frac{14{,}5}{25}$ = 0,174 mg Phosphat. In der Gesamtmenge sind dann 100 . 0,174 = 17,4 mg Phosphat, das sind 0,87 Proz.

Für die Chlorbestimmung wurden 0,5 g getrocknete Kartoffeln nach Zusatz von 5 ccm n/50 Silbernitrat verascht. Es wurde dann mit 1,42 ccm n/50 Ammoniumrhodanid bis zur Rotfärbung zurücktitriert, es waren also 3,58 ccm n/50 Silbernitrat verbraucht. Der Chlorgehalt ist danach 3,58 . 0,71 = 2,54 mg Chlor in 0,5 g Trockensubstanz oder 0,51 Proz.

Über eiweißspaltende Fermente der Placenta.

Von

Bernhard Arinstein.

(Aus der biochemischen Abteilung des städtischen Krankenhauses am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 11. Februar 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Nach der von *Pincussen* (1) ausgesprochenen Anschauung, die auf der von *Jacoby* (2) gefundenen Heterolyse basiert, beruht die spaltende Wirkung des Blutes gegenüber Eiweißkörpern und deren Abbauprodukten auf dem Freiwerden von Fermenten aus zugrunde gegangenen Zellen.

Wie besonders von *Pincussen* ausgeführt worden ist, ist diese Tatsache zugleich ein Grund dafür, daß eine Spezifität, wie sie von *Abderhalden* postuliert und in vielen Untersuchungen auch gefunden worden ist, nicht immer erkennbar wird, weil in vielen Fällen nicht nur Zellen einer Art zugrunde gehen. Sehr häufig gehen, abgesehen von der stets stattfindenden Mauserung, die sich ja ebenfalls nachweisen läßt — vgl. die Untersuchungen von *Pincussen* und Mitarbeitern über den Abbau von Hundepepton durch Hundeserum —, Zellen verschiedener Art in größerem Maße zugrunde. Während es wahrscheinlich ist, daß aus manchen Zellen Fermente herstammen, welche ganz spezifisch eingestellt sind, ist es sicher, daß z. B. die aus den Leucocyten freigesetzten Fermente ganz unspezifisch eingestellt sind.

Die Lehre der von *Abderhalden* zunächst als Abwehrfermente bezeichneten Blutfermente hat ihren Ausgang genommen von der Gravidität, bei welcher *Abderhalden, Freund* und *Pincussen* das Bestehen ganz spezifischer, gegen Placentapepton eingestellter Peptidasen erweisen konnten. Die Entstehung dieser Fermente beruht wahrscheinlich auf dem oben skizzierten Mechanismus. Wenn also auch die Theorie dieser Schwangerschaftsreaktion wohl gegründet erscheint — es handelt sich um Fermente, die aus den zugrunde gegangenen Zellen der Placenta stammen —, so haben doch Nachuntersuchungen gezeigt, daß durchaus nicht alle Autoren imstande waren, die Erscheinung in gleicher Weise wie *Abderhalden* und seine Schule zu reproduzieren. In einer zu gleicher Zeit erscheinenden Arbeit aus dem hiesigen Institut wird auf solche Fälle einzugehen sein.

Der Plan dieser Arbeit war der folgende. Da anzunehmen ist, daß die Blut-Fermente bei der Gravidität aus zugrunde gehenden Placentazellen stammen, so sollte versucht werden, den Vorgang dieser Ferment-

bildung künstlich zu reproduzieren, und zwar durch Autolyse der Placenta. Die im Autolysensaft vorhandenen Fermente sollten nun auf ihr Abbauvermögen, speziell ihre Spezifität geprüft werden, und zwar sollte einerseits die tryptische Wirkung, andererseits die peptidasische Wirkung einer Prüfung unterzogen werden. Gegen diese Versuchsanordnung könnte eigentlich nur ein Einwand gemacht werden, nämlich der, daß im letzten Monat die *Abderhalden*sche Reaktion im Serum sehr gering ist bzw. ganz fehlt, daß also eine ausgewachsene Placenta vielleicht die Fermente nicht in genügender Menge enthalten könnte. Es wird gelegentlich zu prüfen sein, ob jüngere Placenten, deren Beschaffung naturgemäß immer etwas schwierig ist, sich ebenso verhalten wie ausgewachsene. Es ist aber bis auf weiteres anzunehmen, daß die fehlende *Abderhalden*sche Reaktion im zehnten Monat nicht auf das Fehlen von Fermenten in der Placenta zurückzuführen ist, sondern wohl darauf, daß in der allerletzten Zeit der Stoffwechsel der Placenta weniger lebhaft, der Abbau also in geringerem Maße erfolgt. Unklar ist auch der Einfluß von Hemmungsstoffen.

Die Versuchsanordnung war durch diese Erwägungen gegeben: Es war zu prüfen: Autolysensaft gegenüber spezifischem Placentapepton und gegenüber unspezifischem Wittepepton, gegenüber unspezifischem Eiweiß (Casein) und gegenüber spezifischem Placentaeiweiß.

Was die Herstellung der Substrate betrifft, so erfolgt die Darstellung des Placentaeiweißes nach der von *Pregl* und *de Crinis* angegebenen Methode, nach der ein von Pepton freies, feines, fast farbloses Placentapulver erhalten

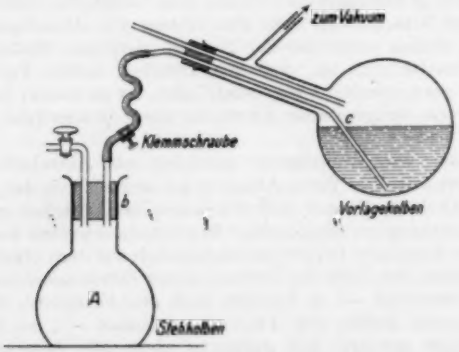


Abb. 1.

wird. Die Darstellung des Placentapeptons folgte im wesentlichen nach den Angaben des *Abderhalden*schen Instituts; es sei nur eine Vorrichtung erwähnt, welche beim Eindampfen der Peptonlösung vermeidet, die Apparatur auseinanderzunehmen, sobald der Vorlagekolben gefüllt ist. Diese Vorrichtung bestand (s. Abb. 1) darin, daß ein gewöhnlicher 1-Liter-Steh-

kolben mit einem doppelt durchbohrten Gummistopfen versehen wurde, durch dessen eine Bohrung ein kurzes, durch einen Glashahn verschließbares Glasrohr durchgeführt wurde. Durch die zweite Bohrung war ein kurzes Glasrohr *b* geführt, welches durch einen Vakuumschlauch mit Klemmschraube mit einem Glasrohr *c* in Verbindung stand, welches durch eine zweite Bohrung im Gummistopfen des Vorlagekolbens bis fast auf dessen tiefsten Punkt durchgeführt war. Beim Anstellen des Vakuums war die Klemmschraube geöffnet und der durch den Schlauch mit dem Inneren des Destillationsapparats in Verbindung stehende Stehkolben gleichfalls evakuiert. War nur die Vorlage genügend weit mit Wasser gefüllt, so wurde das Vakuum stark vermindert, und der höhere Druck im Innern des Vorlagekolbens drückte nun durch das Glasrohr die Flüssigkeit in den Stehkolben herein. Um weiteren Druckverlust zu vermeiden, wurde nun die Klemmschraube geschlossen und durch den Glashahn in dem Stehkolben Atmosphärendruck hergestellt. Der Kolben konnte nun abgenommen, entleert und wieder angesetzt werden.

Wie bekannt, ist die Ausbeute bei der üblichen Peptondarstellung außerordentlich gering, vor allem infolge der starken Absorption durch den Bariumsulfatniederschlag. Bei der Schwierigkeit des Eindampfens großer Mengen lohnt es kaum, die Niederschläge weiter auszuwaschen, so daß man sich eben mit den geringen Ausbeuten zufrieden geben muß.

Zur Herstellung des Placentaautolysats wurde so verfahren, daß die ganz frischen Placenten von der Nabelvene aus blutfrei gewaschen wurden und die fast weiße Placenta durch den Fleischwolf geschickt wurde. Der so erhaltene Gewebebrei wurde durch Aufschwemmen mit Wasser und Dekantieren noch zweimal ausgewaschen und dann mit 750 ccm Wasser pro Placenta im Erlenmeyerkolben unter Überschichtung mit einer dicken Toluolschicht in den Brutschrank bei 37° gestellt. Er blieb dort 48 Stunden und länger, wobei darauf geachtet wurde, eventuell verdampftes Toluol durch neues zu ersetzen. Darauf wurde eine gewisse Menge entnommen, durch Dekantieren von den gröbsten Teilen getrennt und die mäßig getrübte Lösung gut zentrifugiert. Es wurde so eine klare oder fast klare Lösung gewonnen, die sowohl für die optischen wie auch für die rein chemischen Versuche angewendet wurde.

Für die Bestimmung der Peptidasen diente die optische Methode, die von *Abderhalden*, *Pincussen* u. a. wiederholt beschrieben worden ist. Benutzt wurde ein dreiteiliger Polarisationsapparat von *Landolt-Lippich* mit monochromatischem Licht. Leider stehen im hiesigen Institut nicht genügend Polarisationsröhren mit Doppelmantel, ebensowenig die von *Abderhalden* angegebene Heizvorrichtung zur Verfügung, so daß der Ansatz der Mischungen in Kölbchen erfolgte, denen zu bestimmten Zeiten gewisse Mengen entnommen wurden. Die für die Fermentwirkung erforderlichen Reaktionen wurden hergestellt mit Hilfe der bekannten Puffergemische von Phosphat, Citrat, Borat. Neben den aktiven Versuchen liefen regelmäßig Kontrollen mit durch halbstündiges Erhitzen auf 60° inaktivierter Lösung, in einzelnen Fällen auch Kontrollen mit Pepton allein.

Die Gegenwart von Peptidasen gegenüber Placentapepton ergibt sich aus folgendem orientierenden Versuch. Angesetzt 6 ccm 5proz. Peptonlösung, 10 ccm m/15 Phosphatgemisch, 10 ccm 0,85proz. NaCl-Lösung, 4 ccm Autolysensaft, so daß die ganze Lösung 1 Proz. Pepton enthielt. Gläser 2 und 4 waren inaktive Kontrollen, Ablesung im 189,4-mm-Rohr bei 20°.

Zeit	1. p_H 5,9	2. p_H 5,9	3. p_H 7,7	4. p_H 7,7
12h	— 0,76	— 0,76	— 0,76	— 0,76
2h 30′	— 0,70	— 0,76	— 0,72	— 0,76
11h des nächsten Tages	— 0,67	— 0,77	— 0,67	— 0,76
Differenz	+ 0,09	— 0,01	+ 0,09	∓ 0,00

Da die Beobachtung ergab, daß Phosphatgemische von einem p_H von etwa 6 bis 7,6 sowohl in der reinen Peptonlösung als auch im Autolysensaft, wenn auch hier schwächer, eine Ausflockung bewirkten, wurde die Wirkung der Salzkonzentrationen und der [H·] auf die Ausflockung und die optische Drehung untersucht. m/3 Lösungen von primärem und sekundärem Phosphat wurden in verschiedenem Verhältnis gemischt und in Reihen auf die halbe, viertel usw. Konzentration gebracht. Je 2 ccm einer 2proz. Peptonlösung in destilliertem Wasser und 2 ccm Phosphatmischung bzw. 2 ccm Placentaautolysensaft und 2 ccm Phosphatmischung wurden zusammengebracht, die Flockung geschätzt und nach dem Abzentrifugieren der Flockung die Drehung im 189,4-mm-Rohr gemessen.

a) Pepton.

Verhältnis prim. : sek.	Konzentration des Phosphats m/3	m/6	m/12	m/24	m/48
0 : 10	+++ — 0,75	+++ — 0,75	+++ — 0,76	++ — 0,76	++ — 0,76
2 : 8	+++ — 0,76	+++ — 0,76	++ — 0,74	++ — 0,76	++ — 0,75
4 : 6	++ — 0,76	++ — 0,76	++ — 0,76	+ — 0,76	+ — 0,76
6 : 4	++ — 0,76	++ — 0,76	++ — 0,76	+ — 0,76	kaum — 0,75
8 : 2	++ — 0,75	++ — 0,76	++ — 0,76	+ — 0,76	kaum — 0,76

b) Autolysat.

Verhältnis prim. : sek.	Konzentration des Phosphats m/3	m/6	m/12	m/24	m/48
0 : 10	+++	+++	++	+	+
2 : 8	+++	+++	++	+	+
4 : 6	+++	+++	++	++	+
6 : 4	+++	+++	++	++	kaum
8 : 2	+++	+++	++	+	kaum

Die optische Drehung ist fast unmerklich, etwa — 0,02°, also innerhalb der Fehlergrenzen der Ablesung. Es kam nun darauf an, das Optimum der Fermentwirkung festzustellen. Sie wurde daher bei wechselndem p_H von 3,0 bis 9,0 geprüft. Die Ansätze waren die folgenden.

A. 4 ccm 5proz. Peptonlösung, 4 ccm Puffer (m/10 Citrat, m/15 Phosphat, m/10 Borat), 10 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung, 2 ccm Autolysesaft.

B. 4 ccm Peptonlösung, wie oben, 4 ccm Puffer, wie oben, 10 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung, 2 ccm Wasser.

C. 4 ccm Pufferlösung, 4 ccm Wasser, 10 ccm Kochsalzlösung, 2 ccm Autolysesaft.

Alle Lösungen wurden sofort abgelesen und blieben dann 24 Stunden im Brutschrank stehen, worauf eine zweite Ablesung erfolgte. Die Resultate gibt folgende Tabelle:

p_H:	3			4			5		
Versuch:	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Anfang . .	– 0,82	– 0,81	– 0,08	– 0,82	– 0,82	– 0,08	– 0,82	– 0,81	– 0,08
Schluß . .	– 0,40	– 0,74	– 0,00	– 0,70	– 0,76	– 0,00	– 0,72	– 0,78	– 0,04
Differenz .	+ 0,12	+ 0,07	+ 0,08	+ 0,12	+ 0,06	+ 0,08	+ 0,10	+ 0,03	+ 0,04

p_H:	6			7			8			9		
Versuch:	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Anfang	– 1,04	– 1,04	– 0,0	– 1,04	– 1,04	0,0	– 1,04	– 1,04	0,0	– 1,04	– 1,04	0,0
Schluß	– 0,88	– 1,02	0,0	– 0,82	– 1,05	0,0	– 0,81	– 1,04	0,0	– 0,84	– 1,02	0,0
Differ.	+0,16	+0,02	0	+0,22	– 0,01	0	+0,23	0,0	0	+0,20	+0,02	0

Nach Maßgabe dieser Tabelle liegt für die hier in Frage kommende Peptidase das Maximum bei p_H 7 bis 8. Es sei noch darauf hingewiesen, daß die in der Reihe A bei den hohen Aciditäten auftretenden Drehungsänderungen im wesentlichen oder wahrscheinlich sogar vollständig durch hydrolytische Säurespaltung bedingt sind, wie auch die Ergebnisse der Stäbe B und C zeigen.

Es fragt sich nun, ob diese Drehung einem spezifischen Ferment zuzuschreiben ist oder ob es sich um eine allgemeine peptidasische Wirkung handelt. Zu diesem Zwecke wurde unter sonst gleichen Bedingungen das Verhalten des Autolysats gegenüber einer Lösung von Wittepepton geprüft.

Die angewandte Lösung war 1proz., die Ansätze genau wie in dem vorigen Versuch; infolge der schwereren Löslichkeit des Wittepeptons konnte nur von einer 2proz. Lösung ausgegangen werden, so daß die Mischung A bestand aus 10 ccm 2proz. Peptonlösung, 4 ccm Pufferlösung, 4 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung, 2 ccm Autolysesaft.

Die Lösungen B sind entsprechend. Der Peptongehalt entsprach also mit 1 Proz. dem beim Placentapeptonversuch.

Die Resultate dieses Versuchs werden durch folgende Tabelle gegeben, aus der sich deutlich ein erhöhter Abbau zwischen p_H 5 und 7 ergibt, mit starkem Abfall nach beiden Seiten. Die Abnahme bei p_H 6 dürfte auf einem Versuchsfehler beruhen; leider war es aus äußeren Gründen nicht möglich, diesen Versuch zu wiederholen.

p_H:	3			4			5		
Versuch:	A	B	C	A	B	C	A	B	C
0h	— 0,85	— 0,85	0	— 0,85	— 0,85	0	— 0,85	— 0,85	0
nach 48h . .	— 0,74	— 0,85	0	— 0,76	— 0,85	0	— 0,50	— 0,80	0
Differenz	+ 0,11	0	0	+ 0,09	0	0	+ 0,35	+ 0,05	0

p_H:	6			7			8			9		
Versuch:	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
0h . .	— 0,85	— 0,85	0	— 0,85	— 0,85	0	— 0,85	— 0,85	0	— 0,85	— 0,85	0
nach 48h	— 0,65	— 0,80	0	— 0,55	— 0,80	0	— 0,78	— 0,85	0	— 0,80	— 0,85	0
Differ.	+ 0,20	+ 0,05	0	+ 0,30	+ 0,05	0	+ 0,07	0	0	+ 0,05	0	0

Aus dem verschiedenen Optimum für die Wirkung des Autolysats gegenüber dem spezifischen Placentapepton (Optimum p_H 7 bis 8) und dem unspezifischen Wittepepton (Optimum p_H 5 bis 7) darf auf das Vorhandensein eines spezifischen Ferments im Autolysensaft der Placenta geschlossen werden, was wohl als Stütze der anfangs skizzierten Theorie gelten dürfte.

Während sich also bei der Wirkung der Peptidase des Autolysensaftes ein ziemlich klares Bild ergibt, liegen die Verhältnisse erheblich schwieriger bei den Versuchen, die bezwecken sollten, den Nachweis einer spezifischen Tryptase zu erbringen.

Die Versuche waren so angesetzt, daß eine gewisse Menge Placentaeiweiß durch Zusatz der Pufferlösung in der Wärme aufgequollen wurde und nach Abkühlung im Hauptversuch zur Mischung 2 ccm Autolysensaft, im Kontrollversuch B 2 ccm Wasser zugefügt wurden, während die Kontrolle C kein Placentaeiweiß, sondern nur Puffer und Autolysensaft enthielt. Die Lösungen blieben dann 2 Tage im Brutschrank unter einer dicken Toluolschicht stehen, worauf nach der von *Pincussen* angegebenen Methode verfahren wurde: nach Filtration durch ein angefeuchtetes Filter und reichlichem Nachwaschen wurde enteiweißt und in einem aliquoten Teil des Filtrats der inkoagulable Stickstoff bestimmt. Sämtliche Versuche, welche mit Placenta ausgeführt wurden, ergaben, daß der inkoagulable Stickstoff im Vollversuch A geringer war als in der Summe der Kontrollversuche B und C. Vor allem wurde beobachtet, daß der Autolysensaft, wie ja vorauszusehen, erhebliche Mengen von nichtkoagulablem Stickstoff enthielt. Zur Orientierung füge ich eine Tabelle bei, bei welcher im Vollversuch 100 mg Placentaeiweiß, 2 ccm Puffer und 2 ccm Autolysensaft angewandt waren, während die B-Kontrolle ohne Autolysat, die C-Kontrolle ohne Eiweiß angesetzt war. Naturgemäß lassen sich bei Lage der Dinge keinerlei Schlüsse bezüglich einer optimalen Fermentwirkung ziehen.

p_H:	3			4			5		
Versuch:	A	B	C	A	B	C	A	B	C
mg N . . .	1,0	0,55	1,05	1,1	0,45	1,1	1,05	0,55	%

p_H:	6			7			8			9		
Versuch:	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
mg N .	1,0	0,45	1,0	0,85	0,60	0,90	1,15	0,50	1,05	1,1	0,55	1,15

Der Grund für dieses Verhalten liegt zweifellos in Absorptionsverhältnissen, die bekanntlich besonders bei der großen Oberflächenentwicklung eine erhebliche Rolle spielen, wie *Anciães* kürzlich im hiesigen Institut gezeigt hat. Diese Adsorption kommt vor allem für die hochmolekularen Abbauprodukte in Frage. Ferner wäre noch zu berücksichtigen, ob nicht durch gegensätzliche Ladungen von Autolysat und Eiweiß Ausflockungen eintreten können.

Die Verhältnisse liegen etwas günstiger beim Casein, bei welchem die Oberflächenentwicklung erheblich geringer ist. Dementsprechend sind die gewonnenen Ergebnisse auch günstiger, wie die nachfolgende Tabelle zeigt.

p_H:	3			4			5		
Versuch:	A	B	C	A	B	C	A	B	C
mg N . . .	1,0	0,65	0,85	1,45	0,70	0,65	1,55	0,30	1,1

p_H:	6			7			8			9		
Versuch:	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
mg N .	1,45	0,50	1,1	1,85	0,35	0,90	3,1	0,65	1,1	1,30	0,65	1,30

Die Versuchsbedingungen waren die gleichen wie in dem vorhergehenden Versuch, mit der einzigen Ausnahme, daß statt 100 mg Placentaeiweiß 100 mg reinsten Caseins nach *Hammarsten* verwendet wurden. Es ist hier bei p_H 7 und 8 der inkoagulable Stickstoff des Vollversuchs größer als die Summe der beiden Kontrollen, bei p_H 7 0,6 mg, bei p_H 8 1,35 mg. Wir dürfen also hieraus das Vorhandensein einer gewöhnlichen Tryptase schließen.

Ob sich eine spezifische, auf Placentaeiweiß eingestellte Tryptase findet, läßt sich, wie gesagt, mit unseren Versuchen nicht entscheiden. Die Frage muß also vorläufig offen bleiben; die Versuche sagen weder für noch gegen diese Annahme etwas aus.

Literatur.

1) *L. Pincussen*, Deutsch. med. Wochenschr. 1914, S. 425. — 2) *M. Jacoby*, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **3**, 446, 1903. — 3) *L. Pincussen*, diese Zeitschr. **51**, 107, 1913; *Pincussen* und *Petow*, ebendaselbst **56**, 319, 1913. — 4) *Abderhalden*, *Freund* und *Pincussohn*, Prakt. Ergebn. d. Geburtsh. u. Gyn. **2** (II), 367, 1909. — 5) *L. Pincussen*, diese Zeitschr. **132**, 242, 1922. — 6) *J. H. Cascão de Anciães*, ebendaselbst **144**, 179, 1924.

Der Ionenantagonismus als rein chemisches Problem.

(Zugleich ein Beitrag zur Frage der Ca-Ionisation.)

Von

Alexander Belák und **Eugen Szép.**

(Aus dem pharmakologischen Institut der k. ung. Stefan-Tisza-Universität in Debrecen.)

(Eingegangen am 2. Januar 1926.)

In der Entwicklung des vorliegenden Problems lassen sich zwei Phasen unterscheiden.

Die erste wird durch das *biologische Tatsachenmaterial* dargestellt: die allbekannten[1]) Befunde von *Ringer*, *Locke*, *Osterhout*, *Loeb*, *Lillie Bethe* u. a. gehören hierher. Es wurde durch genannte Forscher eine lange Reihe von Tatsachen erhoben, nach welchen verschiedene tierische und pflanzliche Lebewesen und deren Organe nur eine biologisch ausgeglichene, äquilibrierte Salzlösung auf die Dauer vertragen. Sie, vor allem aber *J. Loeb*, konnten auch feststellen, daß der springende Punkt dieser Äquilibrierung in der Anwesenheit von verschiedenen Kationen, neben einwertigen (Na, K) auch von zweiwertigen (Ca), zu suchen sei. Dabei kommt es nicht so sehr auf die absolute Menge als auf das Verhältnis derselben an.

Die Forschung nach dem Warum dieser Erscheinungen führt uns in die zweite Phase der Fragestellung, welche als *Deutung* als *Kolloidphänomen* bezeichnet werden kann. Um nicht in Wiederholung der ausführlichen Darstellung verschiedener Lehr- und Handbücher zu geraten, wollen wir auf nähere Literaturangaben verzichten und die allgemeine Auffassung dieser Vorgänge mit den Worten *Tschermaks*[2]) schildern: „Zur Frage nach der Grundlage des Ionenantagonismus sei bemerkt, daß dieser kein direkt chemischer ist, sondern in einer gegensätzlichen physikalisch-chemischen Wirkung auf gewisse kolloide Bestandteile der lebenden Substanz besteht." Im speziellen soll diese Kolloidwirkung nach den früheren Forschungen je nach den beteiligten Ionen eine zweisinnige und gegensätzliche sein. Gewisse Kationen — Na, K, Rb — haben eine lyophile, die Kolloide (Zellhaut) auflockernde, permeabilitätssteigernde Wirkung, während anderen — Ca, Mg — dementgegen lyophobe, die Kolloiddispersität zurückdrängende, gerbende, permeabilitätsvermindernde Wirkung zukommt. Demgegenüber

---

[1]) Zusammenfassende Darstellung und Literatur u. a. bei *Höber*, Physik. Chem. d. Zelle u. Gewebe, 4. Aufl., S. 521; *Tschermak*, Allgemeine Physiologie, S. 121. Berlin, Springer, 1924.

[2]) l. c., S. 128.

konnte nun *S. M. Neuschloss*[1]) an Lecithin- und Fermentlösungen neuerdings feststellen, daß ein prinzipieller Gegensatz zwischen der Wirkungsweise der verschiedenen Kationen nicht besteht, indem die Oberflächenspannung von Lecithinlösungen durch sämtliche untersuchten Salze (NaCl, KCl, $CaCl_2$, $MgCl_2$, $AlCl_3$) gleichsinnig verändert wird. Die Oberflächenspannung wächst bei alleiniger Einwirkung eines Ions in jedem Falle an und durchläuft ein gewisses Maximum. Werden aber verschiedene Salze in bestimmten Verhältnissen miteinander kombiniert, so kommt es bei gewissen geeigneten relativen Konzentrationen zu einer Verminderung, ja sogar zu einer Vernichtung der erwähnten einseitigen Salzwirkungen.

Wichtig für uns ist nun die Beantwortung der Frage, auf Grund welches Mechanismus diese gegenseitigen Wirkungen zustande kommen? In den Mittelpunkt dieser Fragestellung wird selbstverständlich die Adsorbierbarkeit seitens der Kolloidoberfläche gestellt: Um Kolloidwirkungen zu entfalten, müssen die betreffenden Ionen adsorbiert werden. Es ist weiterhin begreiflich, wenn auch die Stärke dieser Adsorption Gegenstand verschiedener Betrachtungen gewesen ist, und man stellte Beziehungen zwischen dem Antagonismus und Lösungsdruck, Haftdruck usw. auf[2]). All diese Wege konnten aber in bezug auf den Grundvorgang keinen befriedigenden Aufschluß erteilen, denn das erste und wichtigste, was wir bei dieser Angelegenheit kennen sollen, ist das Schicksal der adsorbierten Ionen in dem Moment einer antagonistischen Beeinflussung. Die Kolloidchemie kennt wohl das Phänomen der Ionenverdrängung, worunter verstanden wird, daß adsorbierte Ionen durch andere ausgetauscht werden, d. h. ein Ion einem anderen den Platz räumt und ersteres an dem Adsorbens haften bleibt. Nach diesem Vorgang bleibt somit eine gewisse Ionenzahl oder Ionenvalenz an der adsorbierenden Oberfläche sitzen. Ein ähnlicher Vorgang kann nun in unserem Falle des Ionenantagonismus unmöglich obwalten, denn aus den erwähnten Untersuchungen von *Neuschloss* geht ganz deutlich hervor, daß die Grundwirkung, die Einzelwirkung sämtlicher in Betracht kommenden Ionen dieselbe ist und in einer Vergrößerung der Oberflächenspannung besteht. Würde nun z. B. ein Na-Ion durch das antagonistische Ca-Ion im Sinne der Ionenverdrängung einfach ausgetauscht, so würde daraus unmöglich eine Herabsetzung — zufolge der stärkeren Wirkung des zweiwertigen Ca-Ions —, eher eine Verstärkung der gleichsinnigen Ionenwirkung hervortreten. Auch der zweite mögliche Fall, daß nämlich das zweite, antagonistische Ion, beim Sitzenbleiben des ersteren adsorbiert werden sollte, kann aus dem erwähnten Grunde ausgeschlossen werden, denn jetzt würde anstatt der antagonistischen Gegenwirkung bestimmt eine gleichsinnige Mehrwirkung, eine additive Steigerung zustande kommen.

---

[1]) Kolloid-Zeitschr. **27**, 292, 1920.
[2]) Siehe bei *Tschermak*, l. c.

Es bleibt nach den obigen Ausführungen keine andere Möglichkeit für das Verhalten der antagonistischen Ionen in bezug auf eine Kolloidoberfläche übrig, als daß ein bereits adsorbiertes — aktives — Ion im Moment einer antagonistischen Ionwirkung durch letzteres von der Oberfläche *vertrieben* wird, ohne seinen Platz einzunehmen, also *ohne* es zu *verdrängen*. Die Menge der adsorbierten Ionen wird dadurch überhaupt vermindert, und da nur adsorbierte Ionen einen Kolloideffekt auszuüben imstande sind, verhält sich somit eine Kolloidoberfläche in einem durch Antagonismus äquilibrierten Benetzungsmilieu, als wenn sie in destilliertem Wasser liegen würde. *Neuschloss*[1]) vertritt denselben Standpunkt, allerdings mit dem Unterschied, daß er von Ionenverdrängung spricht, während wir, um Mißverständnissen vorzubeugen, den dieser Auffassung mehr entsprechenden Ausdruck „*Ionenvertreibung*" für geeigneter halten und gebrauchen wollen.

Diese Auffassung hat bereits einen direkten experimentellen Beweis in der allerdings kurz und unvollständig gefaßten Arbeit von *Oijen*[2]) gefunden, welche wir als grundlegend für die Beurteilung unseres Problems betrachten wollen.

Oijen untersuchte die Cl-Adsorption an verschiedenen, nicht näher angegebenen Adsorbenzien aus reiner NaCl-Lösung, ferner aus Gemischen von NaCl + $CaCl_2$ und NaCl + KCl + $CaCl_2$ und fand die Cl-Adsorption in Anwesenheit von $CaCl_2$ bzw. KCl wesentlich vermindert. Es handelt sich also hier zwar nicht um die Adsorption der in Frage stehenden Kationen, sondern nur um deren gemeinsames Anion, wir können jedoch vermuten, daß mit dem Rückgang der Anionenadsorption auch die der Kationen eine Verminderung erfährt.

Mit der Feststellung, daß die bereits adsorbierten Ionen durch ihre Antagonisten aus der Oberfläche vertrieben werden, bzw. daß bei gleichzeitiger Einwirkung beider Ionenarten eine Adsorption überhaupt nicht oder nur in weit geringerem Maße zustande kommt, sind die dazu bewegenden Kräfte noch nicht aufgeschlossen. Es ist einleuchtend, daß der Angriffspunkt dieser Kräfte nicht in der Oberfläche selbst liegen kann, denn die antagonistischen Ionen gelangen im idealen Grenzfalle (günstiges Mengenverhältnis der Ionen) überhaupt nicht bis zur Oberfläche des Kolloids, sie werden ja gar nicht adsorbiert. Somit muß sich der ganze Kampf zwischen den beiden Ionenarten außerhalb der Oberfläche, d. h. im Salzmilieu selbst abspielen, und zwar in dem Sinne, daß durch das Zusammentreffen der antagonistischen Ionen ihre Ionisation gegenseitig zurückgedrängt wird. In dem Falle einer bereits erfolgten einseitigen Ionenadsorption entsteht dadurch ein von der Oberfläche gegen das Benetzungsmilieu gerichtetes Ionen-

[1]) l. c., S. 297.
[2]) Diese Zeitschr. 87, 1918.

druckgefälle, wodurch die bereits adsorbierten Ionen die Oberfläche räumen und dieselbe in einem ionenfreien bzw. ionenarmen Zustande zurücklassen. Die Kolloidionenwirkung wird somit ganz oder teilweise ausgeschaltet.

Unsere Auffassung sagt somit aus, daß eine Kolloidwirkung nur durch freie Ionen auszulösen ist und daß der Wegfall einer solchen als die Folge des *primären* Rückganges der Ionisation zu betrachten ist. Das Problem des Ionenantagonismus hört damit auf, ein kolloidchemisches Phänomen darzustellen und geht in das Gebiet der reinen Chemie bzw. physikalischen Chemie der Lösungen über.

In diesem Zusammenhange sei auch erwähnt, daß auch *H. Wastl*[1]) einen Ionenantagonismus beschrieben hat, welcher in einer kolloidfreien Lösung vor sich geht. Die *Landolt*sche Reaktion, welche zwischen Jodsäure und schwefliger Säure in der Weise abläuft, daß nach dem Verschwinden der gesamten schwefligen Säure plötzlich freies Jod abgeschieden wird, wird durch Cl-, Br-, J-Anionen beschleunigt und durch SO_4, NO_3-Anionen gehemmt. Die beiden Ionenarten heben ihre Wirkungen gegenseitig auf.

Eine Beweisführung des Gesagten hat somit festzustellen, daß die Ionisation eines Salzes durch die Anwesenheit eines anderen zurückgedrängt wird, im speziellen — da es sich hier vor allem um Kationen handelt —, daß die Kationenkonzentration durch die Anwesenheit eines anderen Kations vermindert wird. Wir faßten vorläufig nur eine Ionenart, das Ca-Ion, ins Auge und glauben durch nachstehende Untersuchungen die obige Folgerung experimentell bewiesen zu haben.

Die eingeschlagene Methode war die von *Brinkman* und *van Dam*[2]) in der Ausführung von *H. Behrendt*[3]). Auf absolut gültige Zahlenwerte kann diese modifizierte Methode keinen Anspruch erheben, da Übersättigungen in der titrierten Flüssigkeit vorfallen können (s. weiter unten), zur Gewinnung von Verhältniszahlen ist sie aber recht geeignet. Da es beim Ionenantagonismus hauptsächlich auf das Verhältnis ankommt, so haben wir kein großes Gewicht auf die ganz genau bekannte Konzentration unserer Lösungen gelegt; es ist nur darauf angekommen, daß innerhalb der einzelnen Versuchsreihen mit derselben Lösung gearbeitet werde. Die Methode war kurz folgende: kleine, saubere, serologische Versuchsröhrchen beschickten wir mit einer bestimmten Menge (1 ccm) einer 0,012proz. Lösung von $CaCl_2$; dazu kamen steigende Mengen einer anderen zu untersuchenden Salzlösung und soviel destilliertes Wasser, daß das Volumen der Salzlösung auf 2 ccm ergänzt wird. Der ganze Inhalt des Röhrchens betrug somit 3 ccm. Diese Mischung wurde nun mit einer immer frisch filtrierten 0,0899proz. Ammoniumoxalatlösung titriert. Die Titration geschieht in einem Kästchen, welches aus zwei Abteilungen besteht; die erstere, größere enthielt eine kräftige elektrische Birne, die andere ein kleines Gestell für zwei Versuchsröhrchen. Beide Abteilungen sind durch eine Zwischenwand aus Holz,

[1]) Diese Zeitschr. **134**, 131, 1922.
[2]) Proceedings **22**, Nr. 7, 1920.
[3]) Diese Zeitschr. **144**, 72, 1924.

welche einen mit Milchglas versehenen Spalt besitzt, getrennt. Das Ganze ist inwendig schwarz gestrichen und die erste Abteilung auch von oben zugedeckt. Das eine Röhrchen enthielt die erwähnte, zu titrierende Mischung, während die zweite — mit Wasser anstatt $CaCl_2$-Lösung beschickt — als Kontrollröhrchen diente. Es wird der Tyndalleffekt von obenher beobachtet und als Grenzwert diejenige Menge den Röhrchen tropfenweise zugegebene Oxalatlösung betrachtet, welche in dem $CaCl_2$-haltigen Röhrchen eine faßbare Trübung verursacht. Wir möchten noch darauf aufmerksam machen, daß die Trübung nicht sofort nach Zugabe der Oxalatlösung entsteht, und daß der ganze Vorgang auch einen Zeitfaktor besitzt, wahrscheinlich zufolge der Übersättigung der Lösung mit gelöstem Calciumoxalat (s. weiter unten). Wir haben uns deshalb bei der Ablesung der Werte immer an eine in den Tabellen näher angegebene Frist gehalten.

Wir kommen nun zur Besprechung unserer in den nachstehenden Tabellen zusammengestellten Versuchsergebnisse. Zu den Tabellen sei im allgemeinen folgendes bemerkt: Spalte 4 stellt die bis zur Trübung zugesetzte Ammoniumoxalatmenge in Kubikzentimetern dar; die Bewertung dieser Zahlen folgt aus der Theorie der Methode. Das Löslichkeitsprodukt des Calciumoxalats stellt eine konstante Größe dar: Ca . Oxalat $= k = 0{,}055$ für Millimole pro Liter. Je größer die gefundene Oxalatmenge, desto kleiner die vorhandene Ca-Ionenkonzentration. Ein Ansteigen der zur Titrierung verbrauchten Oxalatmenge bedeutet somit eine geringere Ca-Ionenkonzentration.

Aus Tabelle I ist ersichtlich, daß eine reine $CaCl_2$-Lösung mit 0,3 ccm der angewandten Oxalatlösung eine Trübung gibt. Wird nun NaCl in steigender Menge hinzugefügt, so muß dementsprechend mehr und mehr Oxalatlösung zugesetzt werden, um eine Trübung zu erreichen, d. h. durch NaCl wird die Ca-Ionisation zurückgedrängt. Dieses Ergebnis sagt noch nichts Neues aus; es folgt aus dem Massenwirkungsgesetz, da nach ihm die gemeinsamen Cl-Ionen auch die Ca-Ionisation

Tabelle I.

$CaCl_2$ (0,012proz.) — NaCl (0,564proz.). Ablesung innerhalb 10 Minuten.

$CaCl_2$ ccm	NaCl ccm	H_2O ccm	$(NH_4)_2C_2O_4$ ccm
1,0	—	2,0	0,30
1,0	0,2	1,8	0,37
1,0	0,4	1,6	0,438
1,0	0,6	1,4	0,503
1,0	0,8	1,2	0,563
1,0	1,0	1,0	0,633
1,0	1,2	0,8	0,710
1,0	1,4	0,6	0,767
1,0	1,6	0,4	0,823
1,0	1,8	0,2	0,897
1,0	2,0	—	0,980

Tabelle II.

$CaCl_2$ (0,012proz.) — $NaNO_3$ (0,564proz.). Ablesung innerhalb 10 Minuten.

$CaCl_2$ ccm	$NaNO_3$ ccm	H_2O ccm	$(NH_4)_2C_2O_4$ ccm
1,0	—	2,0	0,30
1,0	0,2	1,8	0,383
1,0	0,4	1,6	0,428
1,0	0,6	1,4	0,480
1,0	0,8	1,2	0,540
1,0	1,0	1,0	0,563
1,0	1,2	0,8	0,60
1,0	1,4	0,6	0,660
1,0	1,6	0,4	0,707
1,0	1,8	0,2	0,763
1,0	2,0	—	0,823

zurückdrängen müssen. *Brinkmann* und *van Dam*[1]) haben sogar an diesem Beispiel ihre Methode zahlenmäßig geprüft, indem sie nachweisen konnten, daß die aus dem Massenwirkungsgesetz berechnete Ca-Ionenkonzentration mit der auf diese Weise gefundenen sehr gut übereinstimmt.

Der Versuch in Tabelle II wurde nun mit einer $NaNO_3$-Lösung ausgeführt, und es war auch hier ein Anwachsen der zur Trübung erforderlichen Oxalatmengen mit steigendem $NaNO_3$-Gehalt zu verzeichnen. Die Ca-Ionisation wird demzufolge auch hier zurückgedrängt, obwohl kein gemeinsames Ion anwesend.

Tabelle III.

$CaCl_2$ (0,012proz.) — KNO_3 (n/10). Ablesung innerhalb 5 Minuten.

$CaCl_2$ ccm	KNO_3 ccm	H_2O ccm	$(NH_4)_2C_2O_4$ ccm
1,0	—	2,0	0,23
1,0	0,2	1,8	0,27
1,0	0,4	1,6	0,323
1,0	0,6	1,4	0,363
1,0	0,8	1,2	0,437
1,0	1,0	1,0	0,477
1,0	1,2	0,8	0,517
1,0	1,4	0,6	0,567
1,0	1,6	0,4	0,597
1,0	1,8	0,2	0,650
1,0	2,0	—	0,707

Tabelle III enthält eine ähnliche Versuchsreihe mit $CaCl_2$ und KNO_3 mit demselben Ergebnis.

[1]) l. c.

Tabelle IV.

Versuch mit NaCl und $NaNO_3$-Lösungen gleicher Normalität. Ablesung innerhalb 5 Minuten.

$CaCl_2$ 0,012 proz. ccm	NaCl n/10 ccm	$NaNO_3$ n/10 ccm	H_2O ccm	$(NH_4)_2C_2O_4$ 0,0899 proz. ccm
1,0	—	—	2,0	0,23
1,0	1,0	—	1,0	0,48
1,0	—	1,0	1,0	0,48

Tabelle V.

Versuch mit KCl- und KNO_3-Lösungen gleicher Normalität. Ablesung innerhalb 5 Minuten.

$CaCl_2$ 0,012 proz. ccm	KCl n/10 ccm	KNO_3 n/10 ccm	H_2O ccm	$(NH_4)_2C_2O_4$ 0,0899 proz. ccm
1,0	1,0	—	1,0	0,475
1,0	—	1,0	1,0	0,473
1,0	—	—	2,0	0,23

Weitere Versuche (Tabelle IV und V), in welchen Salze mit gemeinsamen (Cl) und verschiedenen (NO_3) Anionen in bezug ihrer Wirkung auf die Ca-Ionisation parallel untersucht wurden, zeigen sowohl bei Anwendung der Na- als auch der K-Salze, daß die Ionisation vom Anion durchaus unabhängig ist.

Es gibt aber auch Elektrolyte, z. B. $Mg(NO_3)_2$, welche die Ca-Ionisation nicht beeinflussen können. Ebensowenig wird dieselbe durch Nichtelektrolyte, so durch Traubenzucker (Tabelle VII), Milchzucker (Tabelle VIII), Rohrzucker (Tabelle IX) verändert.

Tabelle VI.

$CaCl_2$ (0,012proz.) — $Mg(NO_3)_2^1$ (n/10). Ablesung innerhalb 10 Minuten.

$CaCl_2$ ccm	$Mg(NO_3)_2$ ccm	H_2O ccm	$(NH_4)_2C_2O_4$ ccm
1,0	—	2,0	0,30
1,0	0,4	1,6	0,30
1,0	1,0	1,0	0,30
1,0	2,0	—	0,30

Tabelle VII.

$CaCl_2$ (0,012proz.) — Traubenzucker (0,564proz.). Ablesung innerhalb 10 Minuten.

$CaCl_2$ ccm	Traubenzucker ccm	H_2O ccm	$(NH_4)_2C_2O_4$ ccm
1,0	—	2,0	0,30
1,0	2,0	—	0,30

Tabelle VIII.

$CaCl_2$ (0,012proz.) — Milchzucker (0,564proz.).
Ablesung innerhalb 2 Minuten.

$CaCl_2$ ccm	Milchzucker ccm	H_2O ccm	$(NH_4)_2C_2O_4$ ccm
1,0	—	2,0	0,26
1,0	2,0	—	0,26

Tabelle IX.

$CaCl_2$ (0,012proz.) — Rohrzucker (0,564proz.).
Ablesung innerhalb 3 Minuten.

$CaCl_2$ ccm	Rohrzucker ccm	H_2O ccm	$(NH_4)_2C_2O_4$ ccm
1,0	—	2,0	0,26
1,0	2,0	—	0,26

All diesen Befunden kann nun die bereits erwähnte Fehlerquelle der angewandten Methode entgegengehalten werden, daß sich namentlich Übersättigungen mit löslichen Calciumoxalat bilden können, durch welche der Oxalatverbrauch größer, als dem tatsächlichen Löslichkeitsprodukt entsprechend, befunden wird. Obwohl *Brinkman* und *van Dam* solche Übersättigungen nur bei Titrierung einer reinen $CaCl_2$-Lösung vorfinden konnten, haben wir, um diese Möglichkeit gänzlich auszuschalten, einige Versuchsreihen nach dem ursprünglichen Vorschlag der genannten Autoren ausgeführt; nach diesem werden steigende abgemessene Mengen der Oxalatlösung zuerst im Wasserbad eingedampft und nachher mit der $CaCl_2$-Lösung zusammengebracht. Wir haben nun die in Tabelle X, Spalte 1 verzeichneten Mengen der Oxalatlösung (es wurde hier eine 0,0899proz. Natriumoxalatlösung verwendet) in kleine Reagenzgläser abgefüllt, im Wasserbad eingetrocknet, sodann mit 1 ccm unserer $CaCl_2$-Lösung und 2 ccm destillierten Wassers versetzt und nach Auflösung des Trockenrückstands in unserem Kästchen geprüft.

Tabelle X.

Ablesung innerhalb 3 Minuten.

$Na_2C_2O_4$ 0,0899 proz. ccm	Nach Eindampfen Zugabe von 1 ccm $CaCl_2$ (0,012 proz.) + 2 ccm H_2O	$Na_2C_2O_4$ 0,0899 proz. ccm	Nach Eindampfen Zugabe von 1 ccm $CaCl_2$ (0,012 proz.) + 2 ccm H_2O
0,05	—	0,25	++
0,10	—	0,30	+++
0,15	—	0,35	+++
0,20	+	0,40	+++

+ = Trübung.

Tabelle XI.

Ablesung innerhalb 3 Minuten.

$Na_2C_2O_4$ 0,0899 proz. ccm	Nach Eindampfen Zugabe von 1 ccm $CaCl_2$ (0,012 proz.) + 2 ccm H_2O	$Na_2C_2O_4$ 0,0899 proz. ccm	Nach Eindampfen Zugabe von 1 ccm $CaCl_2$ (0,012 proz.) + 2 ccm H_2O
0,18	—	0,24	+
0,20	—	0,26	++
0,22	+	0,28	+++

+ = Trübung.

Mit dieser Methode tritt die erste Trübung in einer $CaCl_2$-Lösung nach Tabelle X und XI bei 0,20 bzw. 0,22 ccm Oxalatlösung auf. Bei direkter Titrierung nach der *Behrendt*schen Modifikation tritt die erste Trübung bei 0,26 ccm derselben Oxalatlösung auf. Wird nun mit $CaCl_2$ gleichzeitig auch $NaNO_3$ zum Trockenrückstand der Oxalatlösung gegeben (Tabelle XII und XIII), so wird der Grenzwert der ersten Trübung weit höher, bei 0,5 ccm gefunden. Die direkte Titrierung mit den genannten Lösungen ergab 0,6 ccm Trübungsgrenzwert. Obwohl nun die direkte Titrierung — vermutlich zufolge Übersättigung — immer höhere Oxalatmengen erfordert, ist der Einfluß des Na-Salzes auch durch die originelle, *Brinkman-van Dam*sche Methode ganz deutlich nachzuweisen.

Tabelle XII.

Ablesung innerhalb 3 Minuten.

$Na_2C_2O_4$ 0,0899 proz. ccm	Nach Eindampfen Zugabe von 1 ccm $CaCl_2$ (0,012 proz.) + 2 ccm $NaNO_3$ (0,564 proz.)	$Na_2C_2O_4$ 0,0899 proz. ccm	Nach Eindampfen Zugabe von 1 ccm $CaCl_2$ (0,012 proz.) + 2 ccm $NaNO_3$ (0,564 proz.)
0,1	—	0,5	+
0,2	—	0,6	++
0,3	—	0,7	+++
0,4	—	0,8	+++

+ = Trübung.

Tabelle XIII.

Ablesung innerhalb 3 Minuten.

$Na_2C_2O_4$ 0,0899 proz. ccm	Nach Eindampfen Zugabe von 1 ccm $CaCl_2$ (0,012 proz.) + 2 ccm $NaNO_3$ (0,564 proz.)	$Na_2C_2O_4$ 0,0899 proz. ccm	Nach Eindampfen Zugabe von 1 ccm $CaCl_2$ (0,012 proz.) + 2 ccm $NaNO_3$ (0,564 proz.)
0,44	—	0,52	++
0,46	—	0,54	++
0,48	—	0,56	+++
0,50	+	0,58	+++

+ = Trübung.

In einer $CaCl_2$-Lösung wird somit die Ca-Ionisation durch die Anwesenheit anderer (Na, K) Salze auch dann zurückgedrängt, wenn sich keine gleichartigen Anionen vorfinden.

Mit dieser Feststellung wird die weiter oben abgeleitete Forderung, daß der Ionenantagonismus in einer Zurückdrängung der Ionisation besteht, in bezug auf die Ca-Ionen bestätigt. Zum vollständigen Ausbau des Problems wird noch der Nachweis gehören, daß auch das andere antagonistische Kation (Na, K) in seiner Ionisation zurückgedrängt wird, ferner die Beantwortung der Frage, auf welche Weise diese Ionisationsverminderung zustande kommt. Wir vermuten, daß es sich hier um die Bildung komplexer, nicht dissoziabler Verbindungen handelt, ohne genaueres darüber aussprechen zu können. In der Literatur haben wir gar nichts über komplexe Verbindungen dieser Kationen oder über entsprechendes physikalisch-chemisches Verhalten binärer Salzgemische vorgefunden, so daß diese Fragen ebenfalls einer weiteren Untersuchung harren. Als Wegweiser derartiger Arbeiten kann uns folgende Vorstellung dienen: Treten zwei geeignete Kationen, z. B. Ca und Na zusammen, so entsteht eine komplexe Verbindung. Diese Verbindung enthält eine bestimmte Menge beider Kationen. Befinden sich dieselben in der Lösung in einem Verhältnis, welches der Zusammensetzung dieser komplexen Verbindung entspricht, so treten wahrscheinlich sämtliche Ionen in dieselbe ein, so daß die Lösung keine freien Ionen enthält; ist dagegen das eine oder das andere Ion im Überschuß vorhanden, so wird ein Minimumgesetz bezüglich der Komplexverbindung obwalten, und es bleibt ein Teil des betreffenden, überschüssigen Ions frei; dann ist die Lösung mehr oder weniger ionenaktiv. Es ist klar, daß je nach dem günstigeren oder ungünstigeren Verhältnis der betreffenden Ionen eine schwächere oder stärkere Ionenwirkung zu erwarten sein wird, bei welcher auch individuelle Eigenschaften der Ionen nicht außer acht gelassen werden können. Es schließt sich an diese Probleme als eine besondere Fragestellung an, ob die physiologische Äquilibrierung einen ionenfreien Zustand bedeutet oder aber einer bestimmten Ionenkonzentration gewisser Kationen und Anionen gleichkommt. Die neueren Untersuchungen über Ca-Ionenkonzentrationen der Ringerlösung und der Körpersäfte sprechen für den letzteren Fall.

Im Anschluß an unsere Erörterungen soll noch darauf hingewiesen werden, daß unsere Befunde in die ganze aktuelle Frage der Ca-Ionisation mit einbezogen werden müssen. Die Verschiedenheit der Ergebnisse, welche von den einzelnen Autoren auf Grund ihrer Berechnungen und Beobachtungen zutage gefördert werden, weist ebenfalls darauf hin, daß das Problem zurzeit durch manche klarzustellende Unkenntnisse getrübt wird.

Zusammenfassung.

Der Sitz des Ionenantagonismus ist nicht auf der Kolloidoberfläche, sondern in der Salzlösung selbst zu suchen. Der Vorgang soll sich in der Ionisation von Salzgemischen kundgeben, und es wird dementsprechend mit der *Brinkman-van Dam*schen Methode untersucht, ob die Ca-Ionisation in $CaCl_2$-Lösungen durch die Anwesenheit anderer Kationen beeinflußt wird. Es stellt sich tatsächlich heraus, daß die Ca-Ionisation durch andere (Na, K) Salze auch in dem Falle zurückgedrängt wird, wenn keine gemeinsame Anionen vorhanden sind. Dagegen beeinflussen Mg-Salze und Nichtelektrolyte (Traubenzucker, Milchzucker, Rohrzucker) die Ca-Ionisation nicht.

Somit besteht der Ionenantagonismus in einer *primären* gegenseitigen Zurückdrängung der Ionisation, und die Kolloideffekte sind nur als sekundäre Folgen derselben anzusehen.

Nachwort.

Wir hatten unseren Aufsatz der Redaktion bereits zugesandt, als uns die soeben erschienene Arbeit von *H. Schulten*[1]) bekannt wurde. Dieser Autor unterzieht die *Brinkman-van Dam*sche Methode einer scharfen Kritik und spricht ihr jede Zuverlässigkeit ab. Unsere mit dieser Methode gewonnene Beweisführung würde somit entkräftet werden. Wir können zum methodologischen Teile zurzeit keine Stellung nehmen, es bleiben aber sodann die festgestellten Tatsachen als offene Fragen übrig: Warum verhält sich eine reine $CaCl_2$-Lösung doch anders als eine solche, welche auch andere Kationen enthält? Warum verhalten sich manche Kationen (Mg) nicht in demselben Sinne? und warum werden diese Verhältnisse durch Nichtelektrolyte gar nicht beeinflußt? Um unsere theoretischen Erwägungen, welche Ableitungen aus anderen Befunden darstellen, zu unterstützen, haben wir nach der *Schulten*schen Kritik jedenfalls auch andere Wege einzuschlagen.

[1]) Diese Zeitschrift **164**, 47.

Konzentrierung und Reinigung von Lösungen hydrophiler Kolloide.

Von

H. Bechhold und **E. Heymann.**

(Aus dem Institut für Kolloidforschung, Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 11. Februar 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die Reinigung kolloider Lösungen geschieht seit *Grahams* Zeiten mit Hilfe der Dialyse. Ihre Mängel: Langsamkeit der Reinigung und Verdünnung des Sols durch Dialysierwasser sind bekannt. Die Dialyse kann vorteilhaft durch die Ultrafiltration[1]) ersetzt werden, indem man das Sol einengt, hierauf mit reinem Wasser verdünnt und diese Operation mehrmals wiederholt; hierbei werden die kristalloiden Verunreinigungen ausgewaschen. Wie *E. Heymann*[2]) zeigen konnte, geht die Reinigung durch Auswaschen auf dem Ultrafilter etwa 4- bis 14mal so schnell von statten, wie durch Dialyse. Gleichzeitig kann man bei der Ultrafiltration das Sol beliebig konzentrieren.

A. Konzentrierung der Sole.

Bei Solen hydrophober Kolloide geht das Konzentrieren recht schnell vor sich, da die Durchlaufgeschwindigkeit für Wasser bei Anwendung der *Bechhold-König*schen Ultrafiltergeräte[3]) und einer 5proz. Eisessigkollodiummembran sehr groß ist (etwa 600 ccm in der Stunde bei 100 ccm filtrierender Fläche). Aber auch die Sole vieler hydrophiler Kolloide (Albumin, Globulin, Casein) lassen sich in verhältnismäßig

[1]) *H. Bechhold*, Zeitschr. f. phys. Chem. **60**, 257, 1907; **64**, 328, 1908; Kolloid-Zeitschr. **1**, 107, 1906; **2**, 3, 1907.

[2]) Zeitschr. f. phys. Chem. **118**, 65, 1925.

[3]) *H. Bechhold* und *L. Gutlohn*, Zeitschr. f. angew. Chem. 1924, S. 494.

kurzer Zeit konzentrieren; eine etwa 2- bis 5proz. Albuminlösung läßt sich bei Anwendung von 100 ccm filtrierender Fläche und einer 7proz. Eisessigkollodiummembran in etwa 1 Stunde auf die Hälfte ihres Volumens einengen. Bei Solen von höherer Viskosität, insbesondere solchen, die bei Zimmertemperatur schon in geringer Konzentration erstarren (Gelatine), macht das Konzentrieren gewisse Schwierigkeiten; diese lassen sich aber leicht überwinden, wenn man die *Temperatur* erhöht. Eine Angabe von *Reitstötter* und *Lasch*[1]), „die praktische Unmöglichkeit, Gelatinelösungen durch Ultrafiltration zu konzentrieren, sei bekannt", ist daher *durchaus irrig*, soweit sich diese Angabe auf die *Bechhold*schen Ultrafilter bezieht.

a) Fraktionierung von Gelatinelösungen.

Die Ultrafiltration leistete sogar bei der Untersuchung des Gehalts von Leimen und Gelatinen an Glutin, Proteosen, Peptonen und Aminosäuren sehr wertvolle Dienste. Mit Glutin bezeichnet man diejenigen Bestandteile der Gelatine, die aus einer 2proz. Gelatinelösung bei Halbsättigung mit Magnesiumsulfat ausfallen; mit Proteosen diejenige Fraktion, welche erst bei Ganzsättigung mit Magnesiumsulfat ausfällt; der Rest sind Peptone und Aminosäuren. Eine quantitative Bestimmung wird nach *G. Bogue*[2]) ausgeführt, indem man von einer Gelatine den Gesamtstickstoffgehalt (Mikrokjeldahl) bestimmt, sie ferner mit Magnesiumsulfat in eine Glutinfraktion (I) und eine Glutin + Proteosenfraktion (II) zerlegt und in diesen den Stickstoffgehalt bestimmt; die Differenz zwischen Fraktion II und dem Gesamtstickstoff entfällt auf die Peptone und Aminosäuren. Die Fällbarkeit dieser Proteine durch anorganische Salze erst in hoher Konzentration ließ die Vermutung aufkommen, daß diese fraktionierte Fällung mit Lösungen ein und desselben Salzes in verschiedener Konzentration mit Dispersitätsverschiedenheiten des gelösten Stoffes zusammenhänge, daß also eine Fraktionierung nach der Teilchengröße stattfindet; die Versuche *S. Odéns* an Schwefelhydrosolen[3]) sprechen für diese Vermutung. War diese Annahme richtig, so mußte es gelingen, die Gelatine durch Filtration durch Ultrafilter verschiedener Durchlässigkeit in die gleichen Fraktionen zu zerlegen, wie durch Fällen mit Magnesiumsulfat. Zu diesem Zwecke wurde z. B. eine Gelatinelösung durch Ultrafiltration bei 40 bis 60° auf die Hälfte eingeengt und sowohl im Filtrat als auch im Rückstand nach der oben beschriebenen

[1]) Diese Zeitschr. **165**, 90, 1925.
[2]) Chem. Met. Eng. **23**, 6, 1920.
[3]) Zeitschr. f. phys. Chem. **77**, 682.

Methode Glutin, Proteosen, Peptone und Aminosäuren bestimmt [Versuchsanordnung siehe Abb. 1[1])].

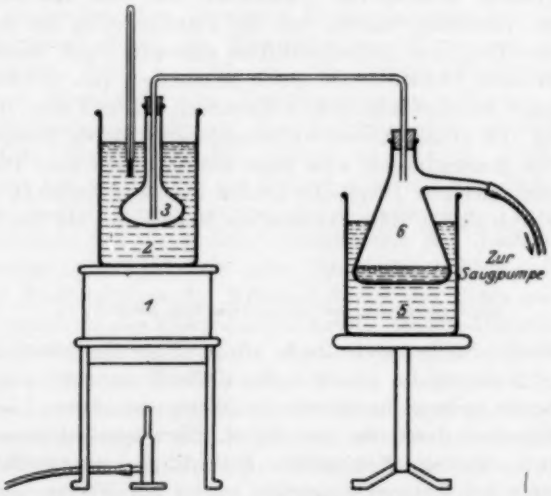


Abb. 1.

1. Wasserbad,
2. Becherglas mit Sol,
3. Ultrafilterballon, a. d. Außenseite mit Ultrafiltermembran verschen,
4. Thermometer,
5. Kühlbad,
6. Saugflasche als Vorlage.

Bei den Versuchen zeigte sich nun, daß *Glutin* im allgemeinen von einer 4proz. Membran zurückgehalten wird; bei den *Proteosen* ergaben sich gewisse Schwierigkeiten. Ein 7proz. Filter hielt bei Gelatine und bei manchen der untersuchten Leime die Proteosen zurück, bei anderen Leimen erwies es sich als für Proteosen durchlässig, bei anderen Leimen hingegen konnten die Proteosen schon durch ein 4proz. Ultrafilter (mit dem Glutin zusammen) zurückgehalten werden. Hieraus ergibt sich also, daß die Fraktion, die man mittels Salzfällung als „Proteosen" identifiziert, nicht isodispers ist, daß also *bei verschiedenen Leimen* die *Proteosen* einen *verschiedenen Dispersitätsgrad* besitzen. Bei der Untersuchung auf Peptone bei der Ultrafiltration durch 7- und 10proz. Filter ergaben sich ähnliche Verhältnisse.

Die Fraktionierung von Solen mit Hilfe der Ultrafiltration ist ein einfaches Problem bei Gemischen von großem Dispersitätsunterschied;

[1]) Die Versuche wurden von Herrn Dr. *W. Sorger* im „Institut für Kolloidforschung" ausgeführt (Dissertation Frankfurt a. M. 1925: „Die Trennung von Glutin und seinen Abbauprodukten durch Ultrafiltration und Salzfällung").

bei feineren Unterschieden in der Teilchengröße sind angesichts der Ungleichporigkeit der Membranen die Versuchsergebnisse mit einer gewissen Vorsicht auszuwerten. Jedenfalls läßt sich aus den oben angegebenen Versuchen folgern, daß die Fraktionen, in die sich das Gemisch von Glutin und Abbauprodukten einerseits durch Salzfällung, andererseits durch Ultrafiltration durch Membranen von verschiedener Durchlässigkeit zerlegen läßt, nicht vollkommen identisch sind, d. h. bei der Fällung des Glutin-Abbauproduktegemisches durch Salzlösungen verschiedener Konzentration wird nicht ausschließlich eine Trennung in Fraktionen gleichen Dispersitätsgrades bewirkt; vielleicht spielen dabei doch noch andere Einwirkungen des Metallsalzes auf das Protein eine Rolle.

b) Untersuchungen an technischen Leimen.

An dieser Stelle seien auch einige Versuche erwähnt, die Herr Dr. *S. Neumann* im „Institut für Kolloidforschung" ausgeführt hat. Es wurden mehrere Leimsorten (je 500 ccm von 5proz. Lösungen) der Ultrafiltration durch ein mit 4proz. Eisessigkollodiummembran imprägniertes *Bechhold-König*sches Ballonfilter unterworfen; die Lösung wurde auf 250 ccm eingeengt, wieder auf 500 ccm aufgefüllt und abermals auf die Hälfte eingeengt. Wir greifen willkürlich einen Versuch heraus. Bei Leim B war die Trockensubstanz im Rückstand von 5 auf 12,5 Proz. gestiegen, der Trockengehalt des Ultrafiltrats betrug 1,65 Proz. Der Aschengehalt des Leimes war durch die geschilderte Prozedur von 1,21 auf 0,66 Proz. gesunken und hätte sich bei nochmaliger Wiederholung des geschilderten Verfahrens noch sehr viel weiter vermindern lassen. Es wurden mit den so behandelten Leimen *Zerreißfestigkeitsbestimmungen* mit der Papierstreifenmethode [*Bechhold* und *Neumann*[1])] gemacht und mit den Zerreißwerten der nicht behandelten Leime verglichen. Die Zerreißfestigkeiten der Leime pro Quadratzentimeter, bezogen auf die gleiche Leimmenge waren bei dreien der verarbeiteten Leime um 12 bis 25 Proz. gestiegen und nur bei einem um 4 Proz. gesunken. Ferner wurde gezeigt, daß eine Leimlösung durch Ultrafiltration von 5 Proz. bis auf 28 Proz. Trockensubstanz konzentriert werden kann; die Trockenbestimmung im Ultra*filtrat* ergab 1,67 Proz. Weiterhin wurden bei einem größeren Versuch 4 kg einer 5proz. Leimlösung bei 60° ultrafiltriert. Die Ultrafiltration kam nach 12 bis 13 Stunden infolge Verstopfung der Poren langsam zum Stillstand. Der Rückstand wog 800 g, die Lösung war also auf etwa das Fünffache konzentriert worden.

---

[1]) Zeitschr. f. angew. Chem. 1924, Nr. 30.

B. Reinigungsmethoden für Lösungen hydrophiler Kolloide.

Bezüglich der Befreiung eines Sols von *ionisierten Kristalloiden* haben die beiden oben genannten Reinigungsmethoden (Dialyse und Ultrafiltration) durch die Elektrodialyse [*Morse* und *Pierce* und insbesondere *Pauli* u. a.[1])] und der Elektro-Ultrafiltration [*Bechhold* und *Rosenberg*[2])] eine Vervollkommnung erfahren; wegen der Versuchsanordnung muß auf die Originalarbeiten verwiesen werden. Mit Hilfe dieser Methoden gelingt es, wie *E. Heymann* (l. c.) berechnet hat, ein Sol 10- bis 100mal so schnell von Elektrolyten zu reinigen als durch reine Dialyse oder Ultrafiltration. Gegenüber der Elektrodialyse hat die Elektro-Ultrafiltration den *Nachteil*, daß man temperaturempfindliche Sole unter Umständen kühlen muß, während bei der Elektrodialyse die Kühlung durch das Spülwasser erfolgen kann; gegenüber der Elektrodialyse hat die Elektro-Ultrafiltration den *Vorteil*, daß durch sie auch die nichtionisierten Kristalloide schneller entfernt werden als durch erstere. Ferner erlaubt die Elektro-Ultrafiltration in einem Sol gleichzeitig die feiner dispersen Anteile von den gröberen zu trennen, also z. B. Albumin gleichzeitig mit der Reinigung von Elektrolyten von seinen kolloiden Abbauprodukten (Albumosen) zu befreien, was mit Hilfe der Elektrodialyse infolge der Kleinheit des Diffusionskoeffizienten dieser Stoffe nicht möglich ist. Ferner gestattet die Elektrodialyse, im Gegensatz zur Elektro-Ultrafiltration, keine Konzentrierung des Sols. Wesentlich ist weiterhin, daß bei der Elektrodialyse die angelegte *Spannung schlechter ausgenutzt* wird als bei der Elektro-Ultrafiltration, da bei der ersteren zwischen Elektrode und Membran reines Wasser zirkulieren muß; in diesen Spülwasserräumen fällt ein großer Teil der angelegten Spannung unwirksam ab[3]).

Eine gewisse Konzentrierung ihrer Lösung bei der Elektrodialyse konnten *F. Reitstötter* und *G. Lasch* (l. c.) durch eine originelle Versuchsanordnung erzielen, die anderen Nachteile bleiben auch bei ihrer Methode bestehen. Die genannten Autoren verwenden, wie bei der Elektrodialyse üblich, einen Dreizellenapparat; doch kommt nur etwa ein Sechstel des zu verarbeitenden Sols in den Mittelraum, der größte Teil befindet sich zunächst in einem (höherstehenden) Rezipienten, der mit dem Mittelraum in Verbindung steht. In dem Maße, wie das Wasser

[1]) Kolloid-Zeitschr. **31**, 252, 1922.

[2]) Diese Zeitschr. **157**, 85, 1925.

[3]) Die Angabe *Reitstötters* und *Laschs*, die Elektro-Ultrafiltration sei ein „Verfahren zur Konzentration von Gelatine und Leimlösungen", erweckt falsche Vorstellungen; wie aus dem oben Gesagten und auch aus der Publikation von *Bechhold* und *Rosenberg* (l. c.) hervorgeht, ist ihre Hauptaufgabe die Reinigung des Sols; außerdem kann dabei die Lösung auch konzentriert werden.

unter der Einwirkung des elektrischen Stromes aus der Mittelzelle in den Kathodenraum auswandert, läßt man das Sol aus dem Rezipienten in den Mittelraum fließen; eine Einwanderung des Wassers aus dem Anodenraum in die Mittelzelle wird durch geeignete Membranen, z. B. chromierte Gelatine, vermieden[1]). Hierdurch wird eine Konzentrierung des Sols bewirkt.

So brauchbar diese Anordnung in vielen Fällen sein mag, so bleibt trotzdem die Überlegenheit der Elektro-Ultrafiltration auch über diese Form der Elektrodialyse aus den oben angegebenen Gründen bestehen. Bei der Elektro-Ultrafiltration wird die Konzentrierung des Sols durch eine Kombination von Ultrafiltration und Elektroosmose bewirkt, bei *Reitstötter* und *Lasch* durch Elektroosmose allein. Nach Versuchen von *Bechhold* und *Rosenberg* ist der durch Ultrafiltration (Unterdruck: 1 Atm.) bewirkte Wassertransport bei Anwendung einer 7proz. (albumindichten) Eisessigkollodiummembran etwa fünf- bis sechsmal so groß, wie der durch Elektroosmose (Spannungsgefälle etwa 50 Volt/cm) bewirkte, und es wird wohl nur selten möglich sein, durch starke Erhöhung der Elektrodenspannung und durch Wahl geeigneter Membranen den elektroosmotischen Wassertransport so zu steigern, daß er dem Ultrafiltrationseffekt, wie *Reitstötter* und *Lasch* meinen, gleichkommt oder gar diesen überflüssig macht.

Auch die Versuche von *Prausnitz*[2]) geben keinen Anhalt dafür, daß der Elektroosmoseeffekt den Ultrafiltrationseffekt überflüssig machen könnte. Der Wassertransport durch eine 7proz. eiweißdichte Bechholdmembran unter der Wirkung der Ultrafiltration beträgt etwa 400 bis 500 ccm pro Stunde bei 100 qcm filtrierender Fläche. Dieser Effekt sei verglichen mit dem Elektroosmoseeffekt an Zsigmondymembranen, die nach *Remy*[3]) von allen untersuchten Materialien die stärkste Elektroosmose zeigen. Ein Membranfilter mittlerer Dichtigkeit (vermutlich nicht eiweißdicht), das — entgegen den Forderungen der *Helmholtz*schen Theorie — in bezug auf Elektroosmose optimal ist, zeigte nach *Prausnitz* bei einem Spannungsabfall von etwa 100 Volt pro Zentimeter eine Wasserüberführung von 1 bis 2 Liter in der Stunde. Da man aber bei elektrodialytischen Arbeiten infolge des größeren Abstandes der Elektroden auch bei hoher Netzspannung wohl kaum mehr als einen Spannungsabfall von 50 Volt pro Zentimeter wird erzielen können, und da der Ultrafiltrationseffekt sowohl an der Kathoden- als auch an

[1]) Hierbei wäre allerdings zu beachten, daß die Membran aus chromierter Gelatine sich beim Gebrauch in chemischer und wohl auch in kapillarelektrischer Hinsicht verändert (vgl. *Ettisch* und *Beck*, Deutsch. med. Wochenschr. 47, 1, 1925).

[2]) Kolloid-Zeitschr. 29, 291, 1921.

[3]) Zeitschr. f. phys. Chem. 118, 161, 1925.

der Anodenseite, der Elektroosmoseeffekt aber nur an der Anodenseite stattfindet, so ist selbst bei diesem für die Elektroosmose so günstigen Beispiel von einem Zurücktreten des Ultrafiltrationseffekts hinter den Elektroosmoseeffekt keine Rede. Eine Steigerung des Elektroosmoseeffekts durch Zugabe von Elektrolyten zum Sol ist bei allen Arbeiten, die auf eine Reinigung des Sols hinzielen, unzweckmäßig. Während bei der Methode von *Reitstötter* und *Lasch* die Größe des Konzentrationseffekts von der Reaktion im Sol abhängig ist, ist die Elektro-Ultrafiltration in bezug auf die Konzentrierung des Sols vom p_H der Lösung weitgehend unabhängig, da bei dieser die p_H-empfindliche Elektroosmose keine große Rolle spielt.

Gegenüber der reinen Dialyse und Ultrafiltration hat die Elektro-Ultrafiltration nicht nur den Vorteil der stark abgekürzten Versuchs*dauer*, sondern es gelingt auch, einen *höheren Reinheitsgrad* zu erzielen; so ist z. B. das durch 5- bis 6stündige Elektro-Ultrafiltration gereinigte Eieralbumin (in 5proz. Lösung) *absolut aschefrei*. Wie noch zu veröffentlichende Versuche aus unserem Institut zeigen, sind die Fällungsreaktionen des Eiweißes mit Schwermetallsalzen, insbesondere die sogenannten „unregelmäßigen Reihen" bei einem absolut aschefreien Albumin ganz verschieden von denen, die mit einem nicht völlig gereinigten Eiweiß ausgeführt werden.

Zusammenfassung.

1. Es wurde gezeigt, daß im Gegensatz zu den Angaben von *Reitstötter* und *Lasch* eine *Konzentrierung von Gelatinelösungen* (und anderen hydrophilen Solen) mit Hilfe der Ultrafiltration nicht nur möglich, sondern auch einfach ist.

2. Eine *Fraktionierung von Gelatine- und Leimlösungen* wurde mittels Ultrafiltration durchgeführt; die erhaltenen Fraktionen sind nicht vollkommen identisch mit denen, die nach der *Bogue*schen Methode (durch fraktioniertes Fällen mit Magnesiumsulfat) erhalten werden.

3. Durch Auswaschen auf dem Ultrafilter wurden Leime von Abbauprodukten und von Asche teilweise befreit. Der Grad der Reinigung ist abhängig von der Häufigkeit des Auswaschens. Die so behandelten Leime zeigten erhöhte Festigkeitseigenschaften.

4. Die elektrischen Methoden (*Elektrodialyse* und *Elektro-Ultrafiltration*) werden diskutiert und miteinander verglichen. Es ergibt sich, daß allein die Elektro-Ultrafiltration eine Entfernung der Elektrolyte *und* nichtionisierten Kristalloide, sowie gleichzeitig eine Fraktionierung und Konzentrierung der kolloiden Lösung gestattet.

Über die Bildung von Acetaldehyd und Acetylmethylcarbinol bei der Gärung und der Atmung der Hefe.

Von

L. Elion.

(Aus dem organisch-chemischen Institut der Universität Utrecht.)

(Eingegangen am 11. Februar 1926.)

I.

Man nimmt jetzt allgemein mit *Neuberg* an, daß der bei der Vergärung von Zucker durch Hefe entstehende Äthylalkohol aus intermediär auftretendem Acetaldehyd gebildet wird. Bekanntlich ist man imstande, diesen Aldehyd, der unter normalen Verhältnissen quantitativ reduziert wird, während der Gärung anzuhäufen, sei es mit Hilfe eines Abfangmittels, das den Aldehyd in statu nascendi festlegt, oder durch die Einwirkung einer anderen reduzierbaren Substanz, welche ihn zum Teil als Wasserstoffakzeptor verdrängen kann. Indessen ist es auch möglich, daß ein Auftreten von Acetaldehyd als Endprodukt der alkoholischen Zuckerspaltung von einer sekundären Oxydation des Gärungsäthylalkohols herrührt, während schließlich unter bestimmten Bedingungen beide Ursachen im Spiele sein können.

Eine solche Kombination einer primären und einer sekundären Acetaldehydbildung hat man bei der alkoholischen Gärung in Gegenwart von Kohle. Vor mehreren Jahren hat *Söhngen*[1]) beobachtet, daß die Zugabe von Kohle eine bedeutende Förderung der Gärung zur Folge hat, die er der niedrigeren Kohlensäurekonzentration der Flüssigkeit zuschrieb, denn infolge eines schnellen Entweichens dieses Gases durch Bläschenbildung wird das Kulturmedium nicht mit Kohlensäure übersättigt. *Neuberg* und *Sandberg*[2]) haben bei ihren Studien über Stimulatoren der alkoholischen Zuckerspaltung gezeigt, daß verschiedene Kohlensorten imstande sind, auch die zellfreie Gärung mittels Hefesäften zu beschleunigen. Hinsichtlich der Deutung dieser Aktivierung wurde

[1]) *N. L. Söhngen*, Folia Microb. **2**, 95, 1913.

[2]) *C. Neuberg* und *M. Sandberg*, diese Zeitschr. **126**, 153, 1921.

von ihnen auch die Möglichkeit einer Bildung von Acetaldehyd mit in Betracht gezogen, dessen gärungsfördernde Wirkung sie schon früher[1]) festgestellt hatten. Auf diese Weise könnte die Leistung der Kohle in letzter Linie eine solche des Acetaldehyds sein.

Eine experimentelle Unterstützung dieser letztgenannten Annahme ergab sich nun aus den Untersuchungen von *Abderhalden* und seinen Mitarbeitern[2]), aus welchen hervorgeht, daß bei der Zuckervergärung in Anwesenheit von Kohle tatsächlich beträchtliche Mengen Acetaldehyds erzeugt werden[3]). Es gelang den genannten Autoren festzustellen, daß einerseits diese Acetaldehydbildung dadurch herbeigeführt wird, daß die Verbindung während der Gärung durch die Kohle adsorbiert und auf diese Weise einer Reduktion zum Äthylalkohol entzogen wird. Durchaus im Einklange mit den Ergebnissen der übrigen Abfangverfahren konnte in diesem Falle ebenfalls eine Zunahme der normalen Glycerinausbeute nachgewiesen werden.

Andererseits wurde jedoch gefunden, daß ein Teil des Acetaldehyds von einer sekundären Oxydation des Alkohols herrührt. Es ergab sich nämlich, daß, wenn man Äthylalkohol, Hefe und Tierkohle in wässeriger Lösung zusammengibt, nach einiger Zeit Geruch nach Acetaldehyd auftritt. Zwar zeigte es sich, daß auch bei Anwendung von Äthylalkohol ohne Hefe, mit Tierkohle Acetaldehyd erzeugt wird, aber in den Parallelversuchen mit lebenden Hefen fielen die Reaktionen auf Acetaldehyd immer bedeutend stärker aus als mit Tierkohle allein. Es unterlag keinem Zweifel, daß Äthylalkohol + Tierkohle + Hefe regelmäßig zu einer ganz beträchtlichen Acetaldehydbildung führen.

Ein zweites Beispiel einer kombinierten primären und sekundären Acetaldehydbildung bietet die alkoholische Gärung unter kräftiger Lüftung, wie dieselbe bekanntlich bei der Lufthefenfabrikation stattfindet. Bei der Anwendung dieser Methode ist nämlich der Aldehydgehalt der ausgegorenen Maischen bedeutend größer als bei der Darstellung von Hefe nach dem Wiener Verfahren. „Der Lufthefenrohspiritus ist so ziemlich der minderwertigste seiner Genossen. Durch die starke Lüftung ist er reich an Aldehyd"[4]).

---

[1]) *C. Neuberg*, diese Zeitschr. **88**, 145, 1918; *C. Neuberg* und *M. Ehrlich*, ebendaselbst **101**, 239, 1920.

[2]) *E. Abderhalden*, Fermentforschung **5**, 89, 110, 255, 1921; *E. Abderhalden* und *S. Glaubach*, ebendaselbst **6**, 143, 1922; *E. Abderhalden* und *W. Stix*, ebendaselbst **6**, 345, 1922.

[3]) Es ist bemerkenswert, daß *Abderhalden*, obgleich seine Versuche mit lebenden Hefen eine ganz bedeutende Gärungsaktivierung erwiesen, konstatierte, daß die Gärung mittels Hefepreßsaft und -mazerationssaft durch Kohle gehemmt bis unterbrochen werden kann.

[4]) *W. Kiby*, Handbuch der Preßhefenfabrikation, S. 617.

Das Verständnis, daß es sich hier in erster Linie um eine „primäre" Acetaldehydbildung handelt, verdankt man *Kluyver*, *Donker* und *Visser 't Hooft*[1]), die vor kurzem dargetan haben, daß das Eingreifen des Sauerstoffs darin besteht, daß derselbe den normalerweise als Wasserstoffakzeptor auftretenden Acetaldehyd verdrängt. Dieser Vorgang muß also notwendig eine Anhäufung des bei der carboxylatischen Spaltung der Brenztraubensäure erzeugten Aldehyds herbeiführen. Wie die Autoren schließen, unterscheidet sich die Wirkung des Sauerstoffs in erster Instanz durchaus nicht von dem Einfluß, den andere geeignete Wasserstoffakzeptoren in dieser Hinsicht ausüben.

In zweiter Linie darf man, wie gesagt, den Acetaldehyd auch als ein sekundäres Oxydationsprodukt betrachten. Dies geht ohne weiteres aus den Beobachtungen von *Trillat* und *Sauton*[2]) hervor, daß bei Berührung von Äthylalkohol mit Hefe, und namentlich bei kräftiger Aeration, Acetaldehydbildung stattfindet, welche die Oxydation durch Kontakt mit porösen Substanzen bei weitem übertrifft[3]). Die erwähnten beiden Autoren haben ihre Versuche mit verschiedenen Hefevarietäten (Bäckerhefe und Bierhefe) ausgeführt und die besten Resultate mit Bäckerhefe erhalten, ein Befund, welchem im Lichte der jüngsten Erfahrungen *Meyerhofs*[4]), daß der Äthylalkohol imstande ist, die Atmung der Preßhefe, nicht aber die der Bierhefe, in hohem Maße zu steigern, neue Bedeutung zukommt[5]).

Im Zusammenhang mit anderen Untersuchungen habe ich auch die von *Trillat* und *Sauton* beschriebenen Versuche unter etwas abänderten Bedingungen wiederholt, und dabei ihre Angaben über die Acetaldehydbildung auch mit der von mir benutzten Preßhefe der

---

[1]) *A. J. Kluyver*, *H. J. L. Donker* und *F. Visser 't Hooft*, diese Zeitschr. **161**, 375, 1925.

[2]) *A. Trillat*, C. r. de l'Acad. des Sciences **146**, 645, 1908; *A. Trillat* und *B. Sauton*, ebendaselbst **146**, 996, 1908; **147**, 77, 1908; Ann. de l'Inst. Pasteur **24**, 310, 1910; Bull. Soc. Chim. (4) **7**, 244, 1910.

[3]) *C. Neuberg* und *J. Kerb* (diese Zeitschr. **43**, 497, 1912; **58**, 166, 1913; **64**, 252, 1914; Ber. **47**, 2730, 1914) haben gefunden, daß eine verdünnte wässerige Lösung von Äthylalkohol mit gärfähigem Hefanol reichlich Aldehyd liefert.

[4]) *O. Meyerhof*, Naturwissenschaften **13**, 980, 1924; diese Zeitschr. **162**, 43, 1925.

[5]) *H. Lundin* (diese Zeitschr. **142**, 454, 1923), der Preßhefe mit verdünntem Alkohol im Sauerstoffstrom geschüttelt hat, berichtet nicht über eine Acetaldehydbildung. Er verweist betreffs der Reaktionsprodukte auf frühere Versuche, bei welchen statt Alkohols Zucker vorhanden war. Daß aber die Reaktion auf Acetaldehyd bei den Zuckerproben negativ ausfiel, wird vielleicht hierauf zurückzuführen sein, daß dieselbe in alkalischer Lösung vorgenommen wurde, in welcher der Aldehyd leicht Umwandlungen erfährt.

„Nederlandsche Gist- en Spiritusfabriek" zu Delft durchaus bestätigen können. Die Oxydation ist schon nach kurzer Zeit wahrnehmbar. So waren z. B., bei Lüftung einer anfänglich aldehydfreien Mischung von 10 g Preßhefe und 200 ccm 10proz. wässerigen Alkohollösung, nach 1 Stunde die Acetaldehydreaktionen schon ganz intensiv. Die betreffenden Versuche wurden so ausgeführt, daß ein kräftiger Luftstrom durch die Suspension und sodann durch einige mit Wasser gefüllte, eisgekühlte Waschflaschen geleitet wurde. Die Prüfung auf Acetaldehyd geschah mittels Nitroprussidnatrium-Piperidin und nach *Tollens*. Sie wurde sowohl mit der ursprünglichen, filtrierten und destillierten Flüssigkeit als mit derjenigen der Waschflaschen vorgenommen.

Anläßlich der bekannten Theorie *Warburgs*[1]) über die Rolle des Eisens als sauerstoffübertragender Bestandteil des Atmungsferments, welche Wirkung ich früher[2]) auch bei einer von bestimmten, obligat anaeroben Bakterien herbeigeführten Übertragung von Sulfatsauerstoff auf organische Substanzen beobachtet hatte, schien es mir von Bedeutung, die obengenannten Versuche auch in Gegenwart einer Eisenverbindung vorzunehmen. Dabei stellte es sich nun heraus, daß die erwähnte Acetaldehydbildung durch Zugabe einer Ferrichloridlösung sehr kräftig gefördert wird. Dies ging nicht nur aus Parallelversuchen mit und ohne Eisenchlorid hervor, sondern auch daraus, daß die Aldehydreaktionen der gelüfteten Preßhefe-Alkohol-mischung nach Beigabe von Eisenchlorid (z. B. 2,5 ccm 75proz. Ferrichlorid pro 100 ccm) bei weitem stärker ausfielen. Die Kontrollversuche ergaben, daß bei Aeration einer mit Eisenchlorid versetzten wässerigen Alkohollösung höchstens Spuren Acetaldehyd auftreten.

II.

In letzter Zeit ist wiederholt über die von *Neuberg* und Mitarbeitern entdeckte Bildung von Acetylmethylcarbinol bei der Gärung der Hefe berichtet worden, welche bekanntlich unter besonderen Umständen erzwungen werden kann. Man hat ihre Erzeugung nachgewiesen bei der Vergärung von Brenztraubensäure[3]) sowie von Oxalessigsäure[4]), und bei der Vergärung von Zucker unter Hinzufügung von Acetaldehyd[5]) oder anderen Wasserstoffakzeptoren[6]). Daraus ist zu schließen, daß die Hefe imstande ist, den auf dem Gärungswege gebildeten Acet-

[1]) *O. Warburg*, diese Zeitschr. **152**, 479, 1924; Ber. **58**, 1001, 1925.
[2]) *L. Elion*, Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., **63**, 62, 1924.
[3]) *J. Hirsch*, diese Zeitschr. **131**, 178, 1922; *C. Neuberg* und *A. von May*, ebendaselbst **140**, 299, 1923.
[4]) *C. Neuberg* und *G. Gorr*, Ergebn. d. Physiol. **24**, 191, 1925.
[5]) *C. Neuberg* und *E. Reinfurth*, diese Zeitschr. **143**, 553, 1923.
[6]) *A. J. Kluyver*, *H. J. L. Donker* und *F. Visser 't Hooft*, l. c., S. 363.

aldehyd mit solchem Acetaldehyd, der aus irgend einem Grunde in Übermaß anwesend ist, zum Acetoin zu vereinigen.

Es schien mir nun erwünscht, festzustellen, wie es sich mit der Atmung der Hefe verhält, d. h., ob auch bei der ebengenannten oxydativen Bildung von Acetaldehyd aus Äthylalkohol, also ohne jede Gärung, Acetylmethylcarbinol erzeugt wird.

Meine Versuche in dieser Richtung, welche ich mehrfach wiederholte, hatten ein positives Ergebnis. Sie lehrten nämlich, daß bei kräftiger Aeration einer zuerst acetoin- und butylenglykolfreien Suspension von 10 Proz. Preßhefe in 5- bis 10proz. wässeriger Alkohollösung, nach mehreren (z. B. 10) Stunden die Anwesenheit von Acetylmethylcarbinol durch Überführung in Nickel-dimethylglyoxim[1]) nachzuweisen ist. In den zu gleicher Zeit angestellten Kontrollversuchen, welche keinen Alkohol enthielten, war die Acetoinreaktion immer negativ, was außerdem darauf hinweist, daß es sich hier nicht, oder wenigstens nicht ausschließlich, um eine etwaige Wirkung von Kohlenhydraten der Hefe handelt.

Dieser Befund ist nun zunächst interessant, weil daraus hervorzugehen scheint, daß die so merkwürdigen carboligatischen Eigenschaften der Hefe nicht immer an irgend einen Gärungsvorgang gebunden sind, sondern auch ohne denselben zutage treten können[2]).

Nebenher scheint der Schluß berechtigt, daß die zum ersten Male von *Kluyver, Donker* und *Visser 't Hooft*[3]) bei der Lufthefefabrikation beobachtete Acetoinsynthese, ganz abgesehen von der stattfindenden Gärung, auch lediglich infolge der oxydativen Acetaldehydbildung auftreten kann.

Man könnte schließlich die Frage stellen, ob für die Aneinanderreihung der Aldehydmoleküle immer ein Teil derselben in statu nascendi vorhanden sein muß, wie dies sowohl bei der auf dem Gärungswege, als jetzt auch auf dem Atmungswege beobachteten Acyloinbildung der Fall ist. Dies ist allem Anschein nach jedoch nicht notwendig. Es zeigte sich nämlich außerdem, daß auch eine 3proz. wässerige Acetaldehydlösung, nach Zugabe von 10 Proz. Preßhefe, schon im Verlauf von z. B. 3 Stunden, im Gegensatz zu den Parallelversuchen ohne Aldehyd, eine kräftige Acetylmethylcarbinolreaktion lieferte.

---

[1]) *M. Lemoigne*, Ann. de l'Inst. Pasteur **27**, 856, 1913; C. r. de l'Acad. des Sciences **170**, 131, 1920; *A. J. Kluyver, H. J. L. Donker* und *F. Visser 't Hooft*, l. c., S. 364.

[2]) Eine andere Erklärung wäre es, daß das Acetylmethylcarbinol auch bei den genannten Versuchen wieder aus Zucker stammt, weil doch die Hefe imstande sein soll, aus Äthylalkohol wieder Zucker zurückzubilden. Mir kommt aber eine solche, etwas gezwungene Vorstellung, auch auf Grund der nachfolgenden Beobachtung weniger wahrscheinlich vor.

[3]) *A. J. Kluyver, H. J. L. Donker* und *F. Visser 't Hooft*, l. c., S. 376.

Wirkung von Arzneimitteln und Strahlen auf Hefe.

I. Mitteilung:

Versuche über die Grundlage des Arndt-Schulzschen Gesetzes.

Von

Heinrich Zeller.

(Aus der medizinischen Universitätsklinik Königsberg.)

(Eingegangen am 15. Februar 1926.)

Hugo Schulz hat bekanntlich Versuche angestellt, die sich mit der Wirkung verschiedener Gifte auf die Gärtätigkeit der Hefe beschäftigen. Er fand, daß schwache Dosen Gifte die Tätigkeit anfachen, mittlere sie fördern und starke sie hemmen oder vernichten. *Schulz* glaubte damit die experimentelle Grundlage für das von *Arndt* entdeckte, später *Arndt-Schulz*sche Gesetz genannte Verhalten beigebracht zu haben.

Ich halte es für notwendig, zunächst die Technik genau zu schildern, nach der *Schulz* verfahren hat.

Eine 10 proz. Traubenzuckerlösung wurde mit Giften verschiedener Konzentration versetzt. Diese Mischungen wurden in Gärgefäße gebracht und am anderen Tage dazu gleiche Teile Hefebrei gegeben. Ein solches Gärgefäß bestand in einem mittels Deckel verschließbaren Zylinder; darin stand ein kleinerer zweiter Zylinder, der mit Quecksilber gefüllt war und dessen oberer Rand die Gärflüssigkeit überragte. In das Quecksilber tauchte ein Steigrohr, das durch den Deckel des Gärungsgefäßes luftdicht nach oben geführt war und frei endigte. Entwickelte nun die Hefe Kohlensäure, so mußte sie das Quecksilber in dem Steigrohr in die Höhe treiben. Die Höhe der Quecksilbersäule konnte erst abgelesen werden, sobald sie über das Niveau des Deckels hinausgestiegen war.

Die Versuchsanordnung läßt folgende Einwände zu:

1. konnte die Hefe nicht durch Schütteln in der Versuchsflüssigkeit gleichmäßig verteilt werden,

2. stand die Gärflüssigkeit unter dem Druck der Quecksilbersäule,

3. wurde der sich bildende Alkohol nicht entfernt. Dieser letztere Einwand ist bedeutungslos, weil im Rahmen des Versuchs nicht derartig große Mengen gebildet werden, daß sie die Gärtätigkeit hemmen würden. Endlich läßt sich noch der Einwand erheben, daß es fraglich ist, ob ein zu gleichen Teilen abgemessener Hefebrei auch wirklich genau gleiche Mengen Hefezellen enthält.

Es ist deswegen nicht verwunderlich, wenn *Schulz* keine miteinander vergleichbaren Resultate erhielt. Schon in einem Leerversuch ohne Giftzusatz differieren die Druckwerte bei gleichen Zeiten erheblich untereinander, wie folgende Zahlen ergeben. Die sechs Leerversuche zeigten nach $4\frac{1}{2}$ Stunden folgende Werte als Differenz des Anfangs- und Enddruckes in Millimeter Quecksilber bei $\frac{1}{4}$stündiger Ablesung:

10,50,	7,95,	9,75,	11,90,	13,85,	10,45
0,25,	0,20,	0,10,	0,20,	0,40,	0,40
0,55,	0,35,	0,80,	0,70,	0,90,	0,40

wobei die zweite Reihe mehr aus dem Anfang des Versuchs, die dritte mehr aus dem Ende genommen wurde. Die Zahlen, die einen Unterschied von höchstens 10 Proz. zeigen sollten, zeigen Unterschiede bis 100 Proz.

Ich verfuhr bei meinen Versuchen anders: Es kommt nicht darauf an, wieviel Kohlensäure absolut entsteht, sondern auf die verschiedenen Mengen, die die einzelnen Gärflaschen in der Zeiteinheit gleichzeitig bilden. Die in der Gärflüssigkeit entstehende Kohlensäure wird unter konzentrierter Kochsalzlösung in einem graduierten Zylinder von 100 ccm aufgefangen. Der umgestülpte Zylinder wird von Zeit zu Zeit nach Füllung durch Kohlensäure entleert und von neuem mit Kochsalzlösung gefüllt. Wasser wurde nicht benutzt, um einen Verlust an Kohlensäure durch Absorption zu vermeiden. Am Fuße des Zylinders befand sich eine Drahtöse zum Aufhängen und Wenden, durch den Zylinder ging eine Glasröhre, die mit dem einen Ende dessen Boden berührte, mit dem anderen Ende durch einen Gummischlauch mit dem Gärgefäß verbunden war. Gleichzeitig wurde mit sieben Gärflaschen gearbeitet, die nebeneinander im Wasserbad standen, vor ihnen waren die sieben Zylinder in einer Kochsalzlösung aufgehängt. Um die Ablesungsresultate direkt verwenden zu können, wurde ein Inhalt des Steigrohres von 4 ccm gewählt. Abgelesen konnte infolgedessen erst werden, wenn diese 4 ccm aus dem Steigrohr verdrängt waren. Dann

wirkt aber der negative Druck der Kochsalzsäule im Zylinder auf die im Gärungsgefäß eingeschlossene Gasmenge, deren Volumen 200 ccm betrug, und dehnt sie um 4 ccm aus, so daß sich der Verlust ausgleicht. Hat die Kohlensäure die Flüssigkeit im Zylinder bis zur Marke 100, die auf der Höhe des Spiegels der Außenflüssigkeit sich befindet, verdrängt, so ist der Druck innen und außen gleich, es findet keine Ausdehnung des Gases mehr statt, aber auch der Lumeninhalt des Steigrohres wird voll mit abgelesen. Ist dagegen die Kohlensäureentwicklung nur bis Marke 50 vorgedrungen, so wird die Saugwirkung auf die Hälfte reduziert sein, aber das Gasvolumen ist von 200 auf 250 ccm gestiegen. Dieses Gas wird durch den negativen Druck auf 252,5 ccm ausgedehnt; man erhält also 2,5 ccm zuviel; das im Steigrohr befindliche Gas wird aber schon zur Hälfte mit abgelesen, so daß der wirkliche Fehler nur ½ ccm beträgt. Es wurden meist Gärflaschen von 1000 ccm Inhalt benutzt, sie wurden dann mit 800 ccm gefüllt, um einen Luftraum von 200 ccm zu haben. Bei Versuchen mit 1000 ccm Gärflüssigkeit blieben noch 25 ccm toter Raum, dann wurde ein Steigrohr mit einem Lumen von 1 ccm gewählt, und es war möglich, damit ebenfalls direkte Ablesungen zu machen.

Der eigentliche Versuch wurde in folgender Weise ausgeführt: Zum Leerversuch wurden 125 g Hefe, 350 g Zucker, 5600 g Wasser von 30° genommen, die Hefe ganz fein mit der Hand in der Lösung zerrieben, häufig umgerührt, so daß keine fühlbaren Teilchen mehr vorhanden waren. Nach 2 Stunden waren alle Hefezellen einzeln bis auf wenige Häufchen zu ungefähr zehn Zellen. Inzwischen hatte sich die Flüssigkeit bis auf 22 bis 25° abgekühlt. Nach längerem Umrühren wurde sie zu gleichen Teilen auf die sieben Flaschen verteilt. Die Flüssigkeitsmengen der zugefügten Giftlösungen waren meist zu vernachlässigen; waren sie aber größer, so wurden sie gleich groß genommen, und eine entsprechende Menge Gärflüssigkeit weniger genommen. Zur Kontrolle wurde selbstverständlich die entsprechende Wassermenge ohne Gift gegeben. Nach Zusatz der Gifte wurde einige Male leicht umgeschüttelt, auch die Kontrolle; da durch das Umschütteln stets Kohlensäure abgegeben wurde. Dann wurden sie ins Wasserbad von bestimmter Temperatur gestellt. Um Ungleichmäßigkeiten zu vermeiden, wurde einige Zeit mit der Ablesung gewartet. Dann wurden die Zylinder der Reihe nach im Abstand von 10 Sekunden gefüllt und wieder aufgehängt. Es mußten im gleichen Abstand die Ablesungen vorgenommen werden, d. h. jeder Zylinder 10 Sekunden später. Der Ausgangspunkt für die Ablesung war der Zeitpunkt, in dem bei der Kontrolle die Kohlensäure die Marke 90 erreicht hatte. Ein Auszug aus dem Leerversuch gibt folgende Resultate:

Zeit	Flasche 1	Flasche 2	Flasche 3	Flasche 4	Flasche 5	Flasche 6	Flasche 7
12h 18 bis 27'	90	91	88	88	86	88	90
12 37'	90	88	88	88	90	90	90
12 47	90	90	86	88	86	90	90
12 57	90	89	88	88	92	88	87
1 06	90	91	88	88	92	88	87
1 15	90	92	87	89	92	88	87
1 50 bis 58	90	92	91	91	90	88	90
2 07	90	90	90	90	90	88	90
2 16	90	91	89	90	90	90	90
2 25	90	91	90	90	91	90	91

Der weitere Verlauf des Versuchs zeigt keine größeren Differenzen als die beiden letzten Reihen aufweisen. Der Leerversuch ergibt also gleichmäßige Resultate im Gegensatz zu dem von *Schulz*. Die erste senkrechte Spalte bedeutet die Zeit, die gebraucht wird, um 90 ccm Kohlensäure zu erzeugen. Die Doppelzahlen stehen bei Beginn oder Wiederaufnahme der Ablesung. Sie weisen scheinbar eine Minute Zeit weniger zur Erzeugung von 90 ccm Kohlensäure auf als die fortlaufend abgelesenen; diese Minute geht bei der Ablesung bzw. Wiederfüllung der Flaschen zu Verlust, sie muß von den fortlaufend abgelesenen Zeiten in Abzug gebracht werden.

Durch diese Versuchsanordnung wurde nun tatsächlich erreicht, daß bei Leerversuchen mehrere Flaschen stets in gleichen Zeiten gleiche Mengen Kohlensäure lieferten. Die äußerste Fehlergrenze betrug bei dem im Gange befindlichen Versuch zwischen den einzelnen Kontrollflaschen $\pm$ 2 Proz. Je nach der gewählten Menge Hefe und der Temperatur wurden in den Leerversuchen 90 ccm Kohlensäure in 4 bis 24 Minuten erzeugt. Die Versuche dauerten den Tag über, doch wurden die Ablesungen, wenn der Versuch längere Zeit im Gange war, stundenlang ausgesetzt. Bei diesem Leerversuch werden zu Beginn 90 ccm Kohlensäure in etwa 9 Minuten erzeugt, später in 8, eine Geschwindigkeit, die die Hefe einige Stunden beibehielt, um dann am Schlusse des Versuchs für die Erzeugung derselben Menge eine längere Zeit zu brauchen.

Die Hefe wurde von einer Stelle täglich frisch bezogen, sie stammte aus der Tilsiter Preßhefefabrik. Wohl habe ich Unterschiede in der Leistung der Hefen gefunden, doch in den hier angeführten Versuchen zeigen sie alle das gleiche Verhalten. Zu den Versuchen wurde Leitungswasser benutzt, da eine Schädigung durch destilliertes Wasser sich feststellen ließ, die besonders beim Zusatz der Gifte zum Vorschein kam. Bei den vielen ausgeführten Versuchen kam als Zucker nur Rübenzucker in Betracht. Ein Wachstum der Hefezellen war beim Auszählen vor und nach dem Versuch kaum festzustellen. Es scheint

bei dieser Versuchsanordnung sich um eine reine Gärwirkung zu handeln. Daher wurden auch Stoffe, die eine Vermehrung begünstigen, wie Phosphorsäure und Ammoniak, vom Versuch ausgeschlossen. Die Vorbereitungen wurden stets mit den am Tage vorher benutzten Gefäßen ausgeführt, die nur diesem Zwecke dienten. Die Hefe hatte immer eine gute Triebkraft, schon 1 Stunde nach Beginn des Ansetzens war sie auf voller Höhe ihrer Leistung und behielt sie einige Stunden bei.

Die nun folgenden Giftversuche verliefen alle in gleicher Weise, wie die Tabellen zeigen, und es war möglich, die gefundenen Werte eines Versuchs mit denen eines anderen zu vergleichen.

Versuch mit Sublimat.

70 g Hefe, 350 g Zucker, 5600 g Wasser werden nach 1½stündiger Gärung auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 0,8 mg Sublimat; Flasche 3 1,6 mg; Flasche 4 3,2 mg; Flasche 5 6,4 mg; Flasche 6 9,6 mg; Flasche 7 16,0 mg Sublimat. Temperatur des Wasserbades 20 bis 22°.

Zeit	Kontrolle	0,001 Prom.	0,002 Prom.	0,004 Prom.	0,008 Prom.	0,012 Prom.	0,02 Prom.
2h 30 bis 52'	7	0	0	0	0	0	0
2 57'	9	0	0	0	0	0	0
3 08	12	8	0	0	0	0	0
3 35	24	20	8	16	15	8	4
3 57	90	97	83	85	52	52	33
4 20	90	99	90	85	75	65	45
4 41	90	96	90	84	80	70	60
5 01	90	96	94	84	82	74	65
5 34 bis 52	90	98	94	85	80	75	68
6 14	90	95	90	85	80	75	68
6 34	90	91	86	85	80	76	66
6 54	90	90	86	84	82	80	66
7 34 bis 54	90	93	87	90	90	86	72
8 10 „ 30	90	91	88	94	95	90	80
9 30 „ 50	90	88	87	92	95	92	86
10 11	90	88	89	95	95	93	92
10 32	90	90	88	90	96	95	97
10 56	90	90	88	90	95	96	88
11 20 bis 45	90	90	88	88	91	90	92

Der Versuch mit Sublimat wurde absichtlich bei niederer Temperatur (22°) vorgenommen, um die Kohlensäureentwicklung möglichst langsam vor sich gehen zu lassen, weil es wichtig war, die Leistung im Anfang des Versuchs genau beobachten zu können. So sehen wir denn, daß in diesem Versuch die Erzeugung von 90 ccm Kohlensäure durch die Gärung beinahe 90 Minuten in Anspruch nahm. Wir können daher sehen, wie die Kontrolle zuerst zu arbeiten beginnt, dann beginnen die mit Sublimat versetzten Flaschen, und zwar in Höhe und Beginn ihrer Leistung ungefähr in umgekehrtem Verhältnis zu der Konzentration des Giftes. Nach einiger Zeit

erholen sich alle und erreichen nicht nur die Höhe der Kontrollzahlen, sie gehen sogar noch darüber hinaus, und zwar zuerst die geringste und erst am Schluß die stärkeren Konzentrationen; später sinken sie alle langsam wieder zur Norm zurück. Flasche 0,001 Prom. erreicht mit 10 Proz. gegenüber der Kontrolle die höchste Mehrleistung, aber nur auf kurze Zeit. Zieht man aber den Durchschnitt durch die Gesamtmehrleistung, so beträgt er im Höchstfalle nur 2,7 Proz. mehr gegenüber der Kontrolle. Die anderen weisen ähnliche Verhältnisse auf, wenn der Vorsprung mit Beginn der Erreichung der Normalen gerechnet wird. Wird aber von Beginn des Zusatzes an gerechnet, so bleiben alle trotz der späteren Steigerung im Vergleich zur anfänglichen Hemmung gegen die Norm zurück. Im Höchstfalle werden 60 ccm Kohlensäure bei Zusatz von Sublimat mehr gebildet, wenn von der vorausgehenden Hemmung abgesehen wird. Es ist also möglich, daß Sublimat scheinbar bei bestimmten Konzentrationen vorübergehend eine Steigerung bewirkt, die aber ohne Effekt auf die Gesamtleistung ist.

Versuch mit Kupfersulfat.

100 g Hefe, 350 g Zucker, 5600 g Wasser werden nach 1½stündiger Gärung auf sieben Flaschen gefüllt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 0,8 mg Kupfersulfat; Flasche 3 1,6 mg; Flasche 4 3,2 mg; Flasche 5 6,4 mg; Flasche 6 9,6 mg; Flasche 7 16,0 mg Kupfersulfat. Temperatur des Wasserbades 20 bis 22°.

Zeit	Kontrolle	0,001 Prom.	0,002 Prom.	0,004 Prom.	0,008 Prom.	0,012 Prom.	0,02 Prom.
2h 30 bis 52′	0	0	0	0	0	0	0
3 08′	10	0	6	0	0	0	0
3 25	26	5	22	15	20	23	20
3 57	90	70	62	53	60	58	55
4 20	90	105	100	95	90	90	88
4 41	90	115	105	95	92	90	90
5 01	90	96	92	89	90	87	80
5 34 bis 54	90	96	92	88	86	86	80
6 14	90	95	94	88	88	86	82
6 34	90	91	91	86	88	82	77
6 54	90	90	90	88	87	85	82
7 34 bis 54	90	92	90	90	90	87	79
8 10 „ 30	90	91	90	89	88	86	80
9 30 „ 50	90	92	92	90	89	87	82
10 11	90	93	91	89	90	88	83
10 32	90	90	90	91	88	86	85
10 32	90	90	90	91	88	86	85
10 56	90	93	90	92	88	89	88
10 20 bis 45	90	90	90	89	89	87	88

Das Kupfersulfat zeigt ähnliches Verhalten wie das Sublimat, nur ist die Hemmung bei den geringeren Konzentrationen eine größere, dafür ist auch der spätere Anstieg ein höherer. Die einmalige Mehrleistung geht bis 27 Proz. bei der stärksten Verdünnung, der Durchschnitt der Mehrleistung vom Überschreiten der Norm an gerechnet beträgt 4,9 Proz. Wird aber der Verlust während der Hemmung mitgerechnet, so ergibt sich nur

ein Überschuß von 2,5 Proz., genau wie beim Sublimat. Die nächsten Konzentrationen ergeben ebenfalls Steigerungen, aber keine so hohe, ebenfalls dauert die Hemmung länger an. Schon eine Verdünnung von 1 : 1000000 kann also eine Steigerung verursachen, die einige Zeit anhält und ungefähr eine Mehrleistung von 80 ccm ergibt. Es ist noch auf die bei den stärkeren Konzentrationen eintretenden Schädigungen aufmerksam zu machen, Flasche 0,004 Prom. läßt die Leistungen nach einigen Stunden zurückgehen, kehrt aber gegen Schluß zur Norm zurück.

Versuch mit Acid. arsen.

100 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 ccm Wasser werden der zweistündigen Gärung überlassen und auf sieben Flaschen gefüllt. 200 mg Arsen werden mit 200 ccm Wasser auf 100 ccm eingekocht, von dieser Lösung kommen: zu Flasche 1 0 ccm; zu Flasche 2 ½ ccm = 1 mg; zu Flasche 3 1½ ccm = 3 mg; zu Flasche 4 3 ccm = 6 mg; zu Flasche 5 6 ccm = 12 mg; zu Flasche 6 12½ ccm = 25 mg; zu Flasche 7 25 ccm = 50 mg Arsenik. Temperatur 25 bis 30°.

Zeit	Kontrolle	0,001 Prom.	0,003 Prom.	0,006 Prom.	0,012 Prom.	0,025 Prom.	0,05 Prom.
3h50' bis 4h02'	90	88	99	84	72	61	35
4 15	90	92	100	88	80	63	39
4 28	90	92	98	86	80	63	39
4 41	90	100	98	90	83	62	4'
4 53	90	97	95	88	83	60	42
5 05	90	98	97	88	83	62	45
5 17	90	92	92	88	80	62	42
5 30	90	92	92	87	80	62	42
5 54	90	97	93	85	78	65	45
6 07	90	96	93	87	76	61	42
6 20	90	95	92	85	77	64	45
6 33	90	94	92	85	77	60	46
6 46	90	91	87	81	75	60	45
7 40 bis 53'	90	90	90	80	75	60	45
8 35 „ 48	90	90	89	82	74	61	45
am anderen Tage:							
8 10 bis 38	90	88	88	90	85	64	50
9 10	90	86	90	90	84	65	50
9 50	90	87	89	90	85	64	50

Schulz gibt an, daß das Optimum der Arsenikwirkung bei 1 : 40000 liegt. Bei allen meinen Versuchen wird die Hefe bei einer Konzentration von 1 : 80000 schon geschädigt. Nur bei einer Konzentration von 1 : 1000000 bis 300000 wird durch Arsenik eine kurzdauernde Steigerung erreicht mit einem Optimum von 11 Proz. Die Ablesung dieses Versuchs wurde nicht von Anfang an gemacht, doch weisen andere Versuche stets zu Beginn Hemmung durch Arsenik auf. Die Erholung beginnt mit der kleinsten Konzentration. Beim Durchrechnen der vollständigen Versuche ergibt sich, daß der Verlust durch Hemmung durch spätere Steigerung nicht ausgeglichen wird. Ohne Zurechnung der Hemmung entsteht ein Überschuß von ungefähr 60 ccm Kohlensäure.

Versuch mit Phosphor.

100 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 g Wasser werden der zweistündigen Gärung überlassen. Dann in sieben Flaschen verteilt. Von einer $\frac{1}{2}$prom. spirituösen Lösung erhält Flasche 1 0 ccm; Flasche 2 1 ccm = 2 mg; Flasche 3 2 ccm = 4 mg; Flasche 4 3 ccm = 6 mg; Flasche 5 4 ccm = 8 mg; Flasche 6 5 ccm = 10 mg; Flasche 7 6 ccm = 12 mg. Ferner erhält jede Flasche die zu 6 ccm fehlende Spiritusmenge. Temperatur des Wasserbades 25 bis 28°. 200 mg Phosphor werden in 100 g Spirit. absol. gelöst.

Zeit	Kontrolle	0,002 Prom.	0,004 Prom.	0,006 Prom.	0,008 Prom.	0,010 Prom.	0,012 Prom.
12h 24 bis 38'	86	89	90	100	86	74	41
12 52'	84	84	91	104	97	80	57
1 06	83	85	92	100	98	90	65
1 36 bis 46	85	92	96	97	100	95	83
1 57	85	92	96	97	100	95	82
2 08	85	92	96	97	96	93	82
2 19	85	91	96	97	96	92	85
2 30	85	90	97	98	96	92	85
3 49 bis 4h	88	92	100	99	102	96	89
3 13	85	89	95	95	96	95	87
3 26	90	95	99	99	102	96	92
3 39	85	90	95	96	100	94	88
5 11 bis 25'	90	94	100	101	102	98	92
5 39	86	92	97	97	100	95	90
5 53	85	90	95	97	99	93	86
6 07	85	89	94	96	97	92	86
8 00 bis 17	90	92	98	100	100	97	92
8 36	90	95	97	100	101	96	92
			am anderen Tage:				
	100	98	98	98	97	94	100

Beim Phosphorversuch geschah die Ablesung zwischen Marke 85 und 90 der Kontrolle. Zuerst tritt Hemmung auf, was aber hier nicht verzeichnet ist. Es ist beim Versuch zu berücksichtigen, daß die Konzentrationswerte ziemlich nahe beieinander liegen, da es nicht möglich war, größere Mengen von Phosphor zuzusetzen, ohne die Hefe durch den Alkohol zu schädigen. Trotzdem tritt bei der letzten Reihe längere Zeit Hemmung auf. Die mittleren Reihen zeigen ungefähr gleiches Verhalten. Sie halten sehr lange in ihrer Steigerung an und erreichen ein Optimum von 20 Proz. Der Phosphor weicht deutlich in seinem Verhalten von den anderen Giften ab. Er zeigt eine spezifischen Wirkung. Am Schluß war noch Phosphor zu riechen. Er erzeugt ungefähr einen Überschuß von 300 ccm Kohlensäure.

Versuch mit Jodtinktur.

125 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 g Wasser gären 2 Stunden, werden dann in sieben Flaschen gefüllt und ins Wasserbad bei 22° gestellt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 1 mg Jod; Flasche 3 4 mg; Flasche 4 8 mg; Flasche 5 16 mg; Flasche 6 24 mg; Flasche 7 40 mg in Form von 10proz. Jodtinktur. Alle Flaschen werden auf den gleichen Spiritusgehalt gebracht.

Zeit	Kontrolle	0,001 Prom.	0,004 Prom.	0,008 Prom.	0,016 Prom.	0,024 Prom.	0,04 Prom.
11h57' bis 12h03'	10	10	10	16	16	8	0
12 05	20	23	26	26	15	4	4
12 07	40	41	34	42	35	25	4
12 10	50	57	54	62	55	42	16
12 17	30	38	40	42	40	32	4
12 22	60	68	68	70	66	55	32
12 25	90	88	92	95	90	70	45
12 41	90	90	90	90	90	74	55
12 55	90	90	90	88	88	76	62
1 10	90	90	86	85	86	76	66
1 38 bis 51'	90	90	91	89	90	80	76
2 05	90	90	91	89	90	82	78
2 19	90	90	89	88	90	82	79
2 33	90	90	89	87	91	84	80
3 30 bis 45	90	90	90	86	87	86	84

Im Versuch mit Jod werden zu Anfang Zwischenwerte abgelesen, um die rasch verlaufende Jodwirkung besser zu übersehen. Jod bedingt in niederen Konzentrationen eine sofortige Steigerung, die aber schnell wirkungslos wird (Glykogenreaktion, Oxydation?), schon nach einer halben Stunde des richtig im Gange befindlichen Versuchs sind sämtliche Werte auf 90, abgesehen von den beiden letzten. Von da ab verlaufen die ersten fünf Kolonnen ganz gleich, die beiden letzten überschreiten erst nach einiger Zeit die Norm, aber nicht über 8 Proz. Jod verursacht in kleinen Dosen eine sofortige Steigerung, die ebenso schnell wieder vergeht, nur die stärker vergifteten zeigen nach starker Hemmung eine länger andauernde Steigerung; dabei verschwindet die Jodfärbung.

Versuch mit Methylviolett.

125 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 g Wasser gären 2 Stunden, werden dann in sieben Flaschen gefüllt und ins Wasserbad bei 22° gestellt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält von einer konzentrierten Methylviolettlösung 0,05 ccm; Flasche 3 0,2 ccm; Flasche 4 0,5 ccm; Flasche 5 1,0 ccm; Flasche 6 2 ccm; Flasche 7 5 ccm.

Zeit	Kontrolle	0,05 ccm	0,2 ccm	0,5 ccm	1,0 ccm	2,0 ccm	5,0 ccm
11h57' bis 12h03'	10	10	20	20	12	10	0
12 05	20	10	20	20	25	20	0
12 07	40	25	25	35	40	28	4
12 10	51	45	40	60	65	50	6
12 17	30	45	45	45	42	32	6
12 22	60	70	70	71	76	57	14

Versuch mit Methylviolett (Fortsetzung).

Zeit	Kontrolle	0,05 ccm	0,2 ccm	0,5 ccm	1,0 ccm	2,0 ccm	5,0 ccm
12h25′	90	90	96	99	92	72	25
12 41	91	98	100	96	88	62	25
12 55	90	92	98	90	78	80	22
1 10	90	90	98	96	74	38	14
1 38 bis 51′	90	90	95	88	75	34	14
2 05	90	90	95	86	75	33	13
2 19	90	90	95	87	76	33	13
2 33	91	90	94	88	77	32	10
3 30 bis 45	90	90	92	91	80	25	8

Methylviolett steigert wie Jod sofort bei nicht zu starken Dosen, doch beginnt die richtige Steigerung später, erreicht ein Optimum von 10 Proz., fällt schnell wieder ab, nur eine Konzentration hält einige Zeit eine vermehrte Kohlensäureproduktion bei. Die stärkeren Konzentrationen lassen bald eine eigentliche Giftwirkung hervortreten, nach anfänglicher Erholung geht die Leistung wieder zurück. Die Farbe der Lösung verändert sich nicht, die Hefezellen färben sich etwas. Methylviolett steht zu Beginn in seiner Wirkung dem Jod nahe, später wirkt es ähnlich wie Kupfersulfat. Die Mehrleistung ist eine sehr kleine, beträgt ohne Zurechnung der Hemmung ungefähr 80 ccm Kohlensäure.

Versuch mit Kochsalz.

100 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 ccm Wasser werden wie sonst behandelt; dazu Kochsalz zu Flasche 1 0 g; zu Flasche 2 2,5 g; zu Flasche 3 5,0 g; zu Flasche 4 7,5 g; zu Flasche 5 10,0 g; zu Flasche 6 15,0 g; zu Flasche 7 20,0 g. Temperatur 26 bis 30°.

Zeit	Kontrolle	0,25 Proz.	0,5 Proz.	0,75 Proz.	1 Proz.	1,5 Proz.	2,0 Proz.
12h48′ bis 1h06′	90	58	49	35	31	21	18
1 04	90	71	67	49	38	14	8
2 07 bis 15′	90	95	97	98	85	89	88
2 23	90	97	102	97	88	85	85
2 33	90	100	100	94	93	87	90
2 42	90	102	102	97	97	88	87
2 52	90	105	101	95	95	85	84
3 02	90	104	100	96	96	83	82
3 12	90	100	96	94	95	84	83
3 22	90	102	99	96	95	85	83
3 32	90	102	99	98	90	87	80
3 42	90	101	96	96	87	84	80
3 53	90	101	99	99	95	84	80
4 04	90	101	97	97	95	85	78
4 15	90	102	98	102	100	88	75
4 26	90	100	95	93	98	83	77
4 37	90	101	94	94	96	85	75
4 48	90	99	93	92	94	87	72
5 33 bis 45	90	99	93	92	88	90	76
5 57	90	96	88	90	87	89	75
6 09	90	95	88	90	85	85	74
6 58 bis 7h 10′	90	96	90	93	92	90	80

Der Zusatz des Kochsalzes erfolgte 1 Stunde vor Ablesung der hier aufgezeichneten Resultate. Alle Flaschen wurden gehemmt und erholten sich nur langsam der Reihe nach, wie der Beginn der Kolonnen zeigt. Die Kontrolle erzeugt in der Zeit der Hemmung gegen Flasche 0,25 Proz. 300 ccm Kohlensäure mehr.

Diese Zahl läßt sich nicht genau bestimmen, da beim Zusatz des Kochsalzes und Mischen eine größere Menge verloren geht. Diesen Verlust holt die Flasche 0,25 Proz. gerade auf im Laufe des Versuchs, so daß die vorübergehende Steigerung von 300 ccm nur scheinbar ist. Die übrigen Flaschen weisen höhere Grade von Hemmungen auf, so daß sie diesen Verlust durch spätere Mehrarbeit nicht mehr einholen. Alle erreichen nach längerer oder kürzerer Zeit die Norm, doch sinken die beiden letzten bald zurück, um später wieder etwas zu steigen. Die anderen gehen über die Norm, das Optimum erreicht Flasche 0,25 Proz. mit 16 Proz., Flasche 1 Proz. kommt noch bis 10 Proz. Sie bleiben längere Zeit über der Norm, wie sie auch längere Zeit gehemmt waren. Kleinere Konzentrationen als 0,25 Proz. bedingen noch Steigerung bis 8 Proz., aber nur bis zu einer Konzentration bis 0,05 Proz. Die Hefe ist bei einer Konzentration bis 10 Proz. noch gärungsfähig, bei 20 Proz. wird sie abgetötet.

Es ist beim Kochsalz möglich, mit geeigneten Konzentrationen eine längere Zeit anhaltende Steigerung hervorzurufen, die aber die vorher eintretende Hemmung nicht übersteigt.

Versuch mit Jodkali.

125 g Hefe, 250 g Zucker, 5600 g Wasser werden der Gärung überlassen und dann in sieben Flaschen gefüllt. Wasserbad 25°. Flasche 1 bleibt Kontrolle; Flasche 2 erhält 0,8 mg Jodkali; Flasche 3 8 mg; Flasche 4 50 mg; Flasche 5 200 mg; Flasche 6 400 mg; Flasche 7 800 mg. Temperatur 26°.

Zeit	Kontrolle	0,001 Prom.	0,01 Prom.	0,06 Prom.	0,25 Prom.	0,5 Prom.	1 Prom.
1h55′ bis 2h09′	90	85	79	80	80	77	70
2 35 „ 47′	90	87	94	100	90	78	71
2 59	90	86	94	110	93	80	78
3 10	90	84	90	110	95	80	78
3 21	90	85	92	105	91	82	72
3 32	90	85	93	108	91	82	76
4 13 bis 21	90	87	89	105	91	85	81
4 30	90	90	97	105	92	84	85
4 39	90	89	94	105	103	90	91
4 48	90	91	93	105	103	96	93
4 57	90	93	93	104	103	100	91
5 06	90	90	96	105	100	92	92
5 15	90	92	100	106	100	98	91
6 25 bis 33	90	94	100	100	102	90	95
6 42	90	90	98	96	96	88	91
6 51	90	90	96	96	98	90	90
7 36 bis 44	90	88	90	94	96	83	88
7 52	90	89	89	96	93	86	87
am anderen Morgen:							
	16	17	27	66	26	16	25

Jodkali übt eine ähnliche Wirkung wie das Kochsalz aus. Zu Beginn eine längere Hemmung, dann Ansteigen der mittleren Flaschen über

die Norm, längeres Verweilen auf Marke 100 mit langsamem Absinken zur Norm. Eine spezifische Wirkung läßt sich nicht nachweisen, nur fängt die Wirkung schon bei kleineren Konzentrationen an und erreicht keine so hohe mögliche Konzentration wie das Kochsalz. Die Mehrausscheidung von Kohlensäure nach Überwindung der Hemmung beträgt ungefähr 300 ccm.

Versuch mit Magnesiumsulfat.

70 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 g Wasser werden 2 Stunden der Gärung überlassen, dann auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 2 g; Flasche 3 4 g; Flasche 4 10 g; Flasche 5 20 g; Flasche 6 40 g; Flasche 7 100 g Magnesiumsulfat. Temperatur 30°.

Zeit	Kontrolle	0,2 Proz.	0,4 Proz.	1,0 Proz.	2 Proz.	4 Proz.	10 Proz.
12h25 bis 28′	24	22	19	19	7	4	2
12 32′ „ 43	90	90	87	73	67	49	34
12 53	90	92	89	80	76	72	55
1 04	90	90	93	86	86	76	80
1 14	90	90	96	93	98	89	90
1 30 bis 40	90	89	93	94	96	92	90
1 51	90	89	95	93	97	95	100
2 02	90	91	95	94	95	96	97
2 14	90	91	95	95	94	94	85
2 26	90	90	94	94	95	95	88
2 38	90	90	94	92	94	93	90
2 51	90	90	95	92	93	93	91
3 03	90	90	95	94	92	92	90
4 30 bis 42	90	90	95	94	90	92	91
4 53	90	89	93	92	90	93	88
6 12 bis 25	90	89	91	92	91	92	90
6 39	90	89	91	90	90	92	92

Magnesiumsulfat wie auch Kaliumchlorid wurden genommen, um noch einmal die Salzwirkung zu prüfen. Magnesiumsulfat ist in 0,2proz. Lösung noch unwirksam. Die nächsten Konzentrationen zeigen zu Beginn alle Hemmung. Sie erholen sich und gehen alle über die Norm. Flasche 10 Proz. erreicht mit 11 Proz. Überschuß das Optimum, aber nur vorübergehend. Am längsten arbeiten über die Norm Konzentrationen mit Flaschen 0,4 bis 2 Proz. Sonst ist der Verlauf wie beim Kochsalz.

Versuch mit Kaliumchlorid.

70 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 g Wasser werden 2 Stunden der Gärung überlassen, dann auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 2 g; Flasche 3 4 g; Flasche 4 10 g; Flasche 5 20 g; Flasche 6 40 g; Flasche 7 100 g Kaliumchlorid. Temperatur 30°.

Zeit	Kontrolle	0,2 Proz.	0,4 Proz.	1,0 Proz.	2,0 Proz.	4 Proz.	10 Proz.
12h25 bis 28′	10	7	4	2	4	3	4
12 32 „ 43	90	67	60	40	40	12	0
12 53′	90	70	70	58	55	29	10
1 04	90	88	92	84	80	55	8
1 14	90	89	90	89	79	77	10

Versuch mit Kaliumchlorid (Fortsetzung).

Zeit	Kontrolle	0,2 Proz.	0,4 Proz.	1,0 Proz.	2,0 Proz.	4 Proz.	10 Proz.
1 30 bis 40	90	90	95	93	82	82	44
1 51	90	93	95	93	85	86	60
2 02	90	93	95	94	86	82	72
2 14	90	93	95	94	86	82	80
2 26	90	92	98	95	86	82	80
2 38	90	97	98	93	86	82	82
2 51	90	96	100	95	85	82	82
3 03	90	96	100	95	85	82	82
4 30 bis 42	90	97	100	94	88	85	86
4 53	90	95	98	95	90	87	88
6 12 bis 25	90	94	98	95	91	90	88
6 39	90	93	95	93	90	92	89

Beim Kaliumchlorid wirkt schon die 2proz. Lösung schädigend. Die Hemmung zu Beginn dauert länger an. Aber alle erholen sich und die niederen Konzentrationen überschreiten die Norm, Konzentration 0,4 Proz. um 11 Proz. Sie bleiben längere Zeit darüber. Bei der dritten Kolonne ist eine sichere Gesamtmehrleistung über die Norm festzustellen unter Hinzurechnung der Hemmung von ungefähr 50 ccm Kohlensäure, ohne Zurechnung der Hemmung von 90 ccm.

Versuch mit Kaliumdichromat.

70 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 g Wasser werden der Gärung überlassen. Nach 2 Stunden werden sie auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle, Flasche 2 erhält 6 mg, Flasche 3 20 mg, Flasche 4 60 mg, Flasche 5 200 mg, Flasche 6 1000 mg, Flasche 7 5000 mg Kaliumdichromat. Temperatur des Wasserbades 25°.

Zeit	Kontrolle	0,006 Prom.	0,02 Prom.	0,06 Prom.	0,02 Prom.	1,0 Prom.	5,0 Prom.
11h00 bis 11'	54	45	35	28	50	21	6
11 20'	90	96	82	75	102	16	12
11 36	90	100	104	95	100	66	25
11 50	90	98	105	96	98	59	25
12 04	90	96	100	103	90	59	28
12 17	90	96	100	92	90	46	25
12 30	90	95	98	88	90	44	25
12 43	90	90	96	85	86	43	18
12 55	90	90	96	85	86	38	20
1 07	90	90	90	83	66	33	16
1 32 bis 42	90	90	90	83	57	20	15
1 54	90	90	89	78	54	20	12
2 05	90	90	90	76	54	19	8

Schulz hat zu seinen Versuchen reine Chromsäure verwandt, sie gibt aber sehr wechselnde Resultate, so daß Kaliumdichromat genommen werden mußte. Zu Beginn wirkt das Salz hemmend, dann arbeitet sich eigenartigerweise Flasche 0,2 Proz. am schnellsten herauf, fällt aber rasch zurück, um am Schluß bis auf 54 zu sinken. Ein ähnliches Verhalten zeigen die beiden letzten Flaschen: nach anfänglicher Erholung sinken die weiteren Werte fortgesetzt. Sogar die Konzentration 0,006 Proz. sinkt von 103 allmählich bis auf 76. Flasche 0,02 Proz. entwickelt ein Optimum von 17 Proz. Wird der Gesamtüberschuß zusammengerechnet, so ergibt sich ein Mehr von 70 ccm Kohlensäure in bezug auf die Norm. Die eintretende Verminderung im Laufe des Versuchs ist sicher auf eine Zellvergiftung zurückzuführen.

Versuch mit Eisenchlorid.

70 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 g Wasser werden 2 Stunden der Gärung überlassen und auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 0,6 mg, Flasche 3 2,0 mg, Flasche 4 6,0 mg, Flasche 5 20 mg, Flasche 6 100 mg, Flasche 7 500 mg Eisenchlorid. Temperatur des Wasserbades 25°.

Zeit	Kontrolle	0,0006 Prom	0,002 Prom.	0,006 Prom	0,02 Prom.	0,1 Prom.	0,5 Prom.
11h00 bis 11'	55	47	48	52	20	0	0
11 20'	90	98	98	104	58	0	0
11 36	90	102	102	100	82	6	0
11 50	90	100	96	97	86	4	1
12 04	90	100	94	95	86	7	0
12 17	90	96	90	94	85	16	0
12 30	90	96	90	92	85	27	3
12 43	90	92	90	92	86	27	0
12 55	90	92	92	90	84	27	0
1 07	90	92	89	92	83	41	4
1 32 bis 42	90	89	90	91	86	46	4
1 54	90	90	89	90	82	46	4
2 05	90	90	89	90	84	50	3

Eisenchlorid steigert in schwachen Konzentrationen sofort nach ganz kurzer Hemmung, wobei Flasche 0,006 Prom. ein Optimum von 15 Proz. erreicht, auch die Konzentrationen 0,0006 und 0,002 Prom. kommen über die 100, doch sinken sie wieder rasch ab. Sie leisten dabei einen Überschuß von 50 ccm Kohlensäure. Die Konzentration 0,02 Prom. kommt nicht mehr ganz zur Norm, und nur nach 3 Stunden erreicht Flasche 0,1 Prom. die 50. Die höchste Dosis wirkt letal. Eisenchlorid wirkt schon in Dosen von 1 : 1600000 steigernd, erzeugt aber nur einen mäßigen Überschuß an Kohlensäure.

Versuch mit Bariumchlorid.

70 g Hefe, 350 g Zucker, 5600 g Wasser werden 2 Stunden der Gärung überlassen, dann in sieben Flaschen gefüllt, ins Wasserbad bei 27° gestellt. Flasche 1 ist Kontrolle; Flasche 2 erhält 2,7 mg, Flasche 3 8 mg, Flasche 4 24 mg, Flasche 5 80 mg, Flasche 6 240 mg, Flasche 7 800 mg Bariumchlorid.

Zeit	Kontrolle	0,003 Prom.	0,01 Prom	0,03 Prom.	0,1 Prom.	0,3 Prom.	1 Prom.
5h15 bis 18'	8	4	4	2	3	0	0
5 23'	30	24	22	20	0	0	0
5 27	50	45	45	40	20	12	10
5 30	63	60	58	53	42	19	18
5 34	90	87	85	82	70	48	48
5 45	90	89	90	87	81	70	62
5 57	90	88	93	94	93	84	83
6 09	90	90	92	91	88	83	85
6 20	90	90	92	91	88	86	86
6 32	90	90	90	90	88	80	90
6 45 bis 57	90	88	90	88	85	86	85
8 10	90	89	91	89	87	89	89
			am anderen Tage:				
	52	44	50	52	40	41	46
	102	84	96	104	80	88	100

Bariumchlorid hemmt zuerst, doch nach kurzer Zeit erholen sich alle, aber nur bei Zeitpunkt 5,57 übersteigen einige Flaschen die Norm, im Optimum um 4 Proz. Die Tabelle zeigt aber, daß eine Steigerung im eigentlichen Sinne nicht vorhanden ist. Es ergibt sich ein maximaler Überschuß von 8 ccm Kohlensäure.

Versuch mit Kaliumpermanganat.

65 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 g Wasser werden 2 Stunden der Gärung überlassen, in sieben Flaschen gefüllt und ins Wasserbad bei 30° gestellt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 0,6 mg, Flasche 3 3,0 mg, Flasche 4 10 mg, Flasche 5 30 mg, Flasche 6 100 mg, Flasche 7 500 mg Kaliumpermanganat.

Zeit	Kontrolle	0,0006 Prom.	0,003 Prom.	0,01 Prom.	0,03 Prom.	0,1 Prom.	0,5 Prom.
8h00 bis 04'	18	8	4	4	3	3	2
8 06'	36	8	6	8	8	4	2
8 10	55	18	20	28	26	28	4
8 17	90	40	46	66	72	76	0
8 31	90	80	90	100	90	66	10
8 45	90	90	96	102	86	58	4
8 59	90	95	100	100	90	60	0
9 13	90	96	98	93	87	58	0
9 27	90	95	98	92	85	56	0
9 41	90	98	98	90	80	53	0
			am anderen Tage:				
	80	75	72	77	62	70	0
	80	78	75	80	70	80	0

Zu Beginn hemmt das Kaliumpermanganat. Die stärkste hier gebrauchte Dosis wirkt letal. Von den übrigen Konzentrationen erholen sich merkwürdigerweise zuerst die höheren Konzentrationen, die aber bald einen Rückgang aufweisen, der mit 80 und 53 merklich unter die Norm sinkt. Flasche 0,01 Prom. erlangt ein Optimum von 13 Proz., die ersten drei

Flaschen gehen über die Norm, sinken aber bald wieder ab. Eine nennenswerte Mehrleistung wird dabei nicht vollbracht. Die Gärflüssigkeit entfärbt sich nach kurzer Zeit. Es wird ein maximaler Kohlensäureüberschuß von etwa 80 ccm gebildet.

Versuch mit Kalium chloricum.

70 g Hefe, 350 g Zucker, 5600 g Wasser werden 2 Stunden der Gärung überlassen, dann in sieben Flaschen gefüllt und ins Wasserbad bei 27° gestellt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 2,7 mg, Flasche 3 8 mg, Flasche 4 24 mg, Flasche 5 80 mg, Flasche 6 240 mg, Flasche 7 800 mg Kaliumchlorat.

Zeit	Kontrolle	0,003 Prom.	0,01 Prom.	0,03 Prom.	0,1 Prom.	0,3 Prom.	1,0 Prom.
5h15 bis 18′	15	8	5	5	4	3	3
5 23′	33	25	20	8	6	10	10
5 27	50	39	34	31	27	20	12
5 30	70	60	52	50	46	37	30
5 34	90	79	70	68	65	53	44
5 45	90	91	86	90	90	80	70
5 57	90	94	92	93	94	90	82
6 09	90	95	94	96	98	95	90
6 20	90	95	94	96	98	95	90
6 32	90	94	94	96	98	97	95
6 45 bis 57	90	95	92	92	95	92	92
8 10	90	92	89	93	93	92	92
			am anderen Tage:				
	52	50	52	50	36	38	38
	102	98	92	104	100	76	80

Kalium chloricum wurde gewählt, um festzustellen, ob es eine besondere Giftigkeit auf die Hefe ausübt. Aber nach anfänglicher Hemmung erholen sich alle Flaschen, ohne eine besondere Wirkung zu zeigen. Sie überschreiten nur für kurze Zeit die Norm, erreichen ein Optimum von 9 Proz. und gehen dann zur Norm zurück. Es ergibt sich ein maximaler Überschuß von 70 ccm Kohlensäure.

Versuch mit salicylsaurem Natron.

65 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 g Wasser werden 2 Stunden der Gärung überlassen, in sieben Flaschen abgefüllt und ins Wasserbad bei 30° gestellt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 6 mg, Flasche 3 40 mg, Flasche 4 100 mg, Flasche 5 300 mg, Flasche 6 1,0 g, Flasche 7 5,0 g Natr. salicyl.

Zeit	Kontrolle	0,006 Prom.	0,04 Prom.	0,1 Prom.	0,3 Prom.	1,0 Prom.	5,0 Prom.
8h00 bis 04′	30	19	7	6	14	4	0
8 06′	42	45	18	18	20	5	0
8 10	60	40	38	35	32	5	0
8 17	90	71	68	60	51	18	4
8 31	90	98	96	105	66	8	4
8 45	90	98	96	104	76	8	4
8 59	90	100	100	106	76	8	0
9 13	90	100	102	107	76	8	4
9 27	90	98	99	105	75	8	4
9 41	90	100	98	108	78	8	0
			am anderen Tage:				
	75	76	75	88	80	5	0
	75	80	78	90	80	7	0

Das salicylsaure Natron hemmt anfänglich, bei den beiden letzten Konzentrationen ist die Wirkung eine letale. Die ersten drei Flaschen erholen sich ziemlich rasch und übersteigen die Norm. Flasche 0,1 Proz. erreicht mit 20 Proz. das Optimum. Alle drei arbeiten fortgesetzt mit einer Steigerung von 10 bis 15 Proz., sogar die Nacht über. Es ist hier eine fortdauernde Steigerung festzustellen, die bei den anderen Untersuchungen sich bisher nicht zeigte. Der maximale Kohlensäureüberschuß beträgt 16 Proz. der Kontrolle. Die Salicylsäure weist ein derartiges Verhalten nicht auf, sie erzeugt nur eine rasch vorübergehende Steigerung.

Versuch mit Röntgenbestrahlung.

100 g Hefe, 250 g Zucker, 7000 g Wasser werden der zweistündigen Gärung überlassen, dann in sieben Flaschen verteilt und zur Bestrahlung gebracht, die mit einem Symmetrieapparat geschieht. Der Abstand beträgt 23 cm vom Fokus der Coolidgeröhre. Bestrahlt wird ohne Filter bei 2,5 Milliamp., 110 Spannungshärtemesser, 153,75 Kilovolt und 0,08 Å.-E. — Flasche 1 bleibt unbestrahlt, Flasche 2 wird 2 Minuten, Flasche 3 5 Minuten, Flasche 4 10 Minuten, Flasche 5 20 Minuten, Flasche 6 30 Minuten, Flasche 7 40 Minuten bestrahlt.

Zeit	Kontrolle	2 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.
11h32 bis 40′	90	100	100	104	103	87	40
11 48′	90	97	93	100	95	85	60
11 56	90	98	96	103	101	92	70
12 04	90	98	102	100	100	94	75
12 12	90	100	98	98	100	98	82
12 20	90	100	99	100	98	97	85
12 28	90	100	105	106	97	93	85
12 36	90	100	99	99	98	101	88
12 50 bis 57	90	86	97	93	90	87	94
1 05	90	95	94	98	93	90	93
1 13	90	93	93	94	90	90	94
2 00 bis 07	90	95	96	97	95	96	94
2 14	90	95	93	95	94	90	100
2 21	90	92	94	96	94	93	106
2 28	90	90	91	92	89	88	96
2 35	90	91	92	87	84	84	92
2 42	90	91	91	86	83	82	90
4 04 bis 12	90	92	90	92	93	94	90
4 20	90	93	91	92	93	89	88
4 28	90	90	91	89	89	90	90
6 20 bis 30	90	89	90	93	96	93	89
6 41	90	94	90	92	90	90	87
8 00 bis 12	90	89	89	92	91	94	92
8 25	90	89	90	90	90	92	90

Dieser Versuch zeigt eine deutliche Wirkung der Röntgenstrahlen. Flasche 7 ist zu Beginn ziemlich gehemmt, die Flaschen 2 bis 5 haben sich schon erholt oder erholen sich noch wie Flasche 6. Alle überschreiten die Norm, das Optimum erreicht die 10 Minuten bestrahlte Flasche mit 17 Proz. Sie gehen dann langsam zu 90 zurück. Auffallend sind die plötzlichen

Sprünge der Zahlenwerte, die ein ungleiches Arbeiten der Hefezelle verraten. Von 100 geht es auf 86, von 93 auf 101; bei allen anderen Versuchen, ausgenommen denen mit Röntgenstrahlen, zeigte sich kein solches Verhalten. so daß anzunehmen ist, daß hier eine besondere Wirkung vorliegt. Die Hemmung zu Beginn ist nur bei den letzten Flaschen sichtbar, der Grund liegt in der zurückliegenden Bestrahlung, die mit der Flasche 2 begonnen wurde und mit der siebten aufhörte. In dieser Zwischenzeit haben sich die ersten schon erholt. Zur genauen Feststellung wurde während der Bestrahlung die Kohlensäureentwicklung verfolgt. Zwei vor Wärmestrahlung geschützte Flaschen wurden ins Röntgenzimmer gebracht, die eine wurde bestrahlt, die andere diente als Kontrolle. Schon nach 5 Minuten Bestrahlungsdauer konnte eine Verringerung der Kohlensäurebildung festgestellt werden.

Versuch mit Höhensonnenbestrahlung.

Je 15 g Hefe werden mit 50 ccm 5proz. Zuckerlösung in flacher Schale von 30 cm Durchmesser zu einem Brei zerrührt, so daß die Schichtdicke höchstens 1 mm beträgt Im Abstand von 50 cm werden die Schalen nach 1 Stunde mit einer Hanauer Quarzlampe bestrahlt. Eine Schale bleibt unbestrahlt, die zweite wird 5 Minuten, die dritte 10 Minuten, die vierte 20 Minuten, die fünfte 30 Minuten, die sechste 40 Minuten, die siebte 60 Minuten bestrahlt. Nach der Bestrahlung werden die Schalen mit der nötigen Zuckermenge in die Versuchsflaschen ausgespült, so daß 15 g Hefe, 50 g Zucker, 1000 g Wasser auf jede Flasche kommen.

Zeit	Kontrolle	5 Min.	10 Min.	20 Min	30 Min.	40 Min.	60 Min.
5h03 bis 08′	90	102	95	96	96	90	84
5 13′	90	97	92	95	90	86	84
5 18	90	100	100	95	91	89	89
5 24	90	95	98	91	86	84	85
5 30	90	97	96	90	85	84	85
5 35	90	93	95	90	86	83	85
5 40	90	96	96	93	87	84	90
6 00 bis 05	90	96	95	90	85	83	85
6 10	90	96	95	90	85	83	85
6 15	90	96	95	93	86	80	80
6 35 bis 40	90	96	95	92	82	80	82
6 45	90	93	91	91	82	80	82
8 02 bis 07	90	90	90	97	85	83	82
8 13	90	91	91	90	86	85	85
			am anderen Morgen:				
	70	70	68	70	64	61	63

Die Bestrahlung gibt ein ähnliches Resultat wie die Gifte. Die sicher am Anfang auch hier eintretende Hemmung läßt sich technich unmöglich nachweisen. Steigerung tritt bei den kürzer bestrahlten auf, geht aber nachher zurück. Bei den länger bestrahlten ist eine kleine Schädigung bemerkbar, die eigenartigerweise später zunimmt.

Bei der Durchsicht der bisherigen Versuche ergibt sich, daß alle Stoffe zu Beginn des Versuchs auf die in Gärung befindliche Hefe hemmend wirken. Nach verschieden langer Zeit erholt sich die Hefe meist bis zur alten Höhe ihrer Tätigkeit, bei bestimmten Konzentrationen kann sie sogar eine Steigerung zeigen, die aber schließlich wieder zur Norm zurückgeht. Ausnahmen machen Jod, Bariumchlorid und das salicylsaure Natron. Letzteres liefert nach anfänglicher Hemmung bei bestimmten Konzentrationen dauernd einen größeren Überschuß von Kohlensäure, der nur nach starker Reduktion des Zuckers der Gärungsflüssigkeit zurückgeht, aber bei Zusatz neuen Zuckers die alte Höhe wieder erreicht. Jod weist eine sofortige einmalige Steigerung auf, bleibt aber dann unwirksam, genau wie das Bariumchlorid, das nur Hemmung, aber keine Steigerung zeigt. Außer den hier angeführten Substanzen wurden noch viele andere untersucht, die alle ein ähnliches Verhalten aufweiser, besonders möchte ich hier die Ameisensäure und Salicylsäure erwähnen, die beide nach vorangehender Hemmung nur eine kurzdauernde Beschleunigung erzeugen, also gänzlich von der Wirkung ihrer Salze abweichen.

Bei der Durchsicht der Literatur fand ich: *Euler* und *Cassel* haben wie *Schulz* bemerkt, daß verschiedene Substanzen einen Einfluß auf die Gärtätigkeit ausüben können. Sie haben salicylsaures Natron, Phenol, Borsäure untersucht, finden aber im Höchstfall eine Steigerung von 20 Proz. Sie finden die Wirkung von Ammoniumformiat in bezug auf die Steigerung optimal. Doch lassen sich die verschiedenen Konzentrationen der Versuche schwer miteinander vergleichen, da sie nicht gleichzeitig ausgeführt wurden. Als Grund vermutet *Euler*, daß durch die Giftwirkung eine Veränderung der äußeren Zellschichten stattfindet. Warum aber die eine Konzentration steigernd wirkt, die andere schädigend, oder warum ein Stoff fortdauernd steigernd wirkt, läßt er dahingestellt.

Neuberg, *Oppenheimer*, *Fränkel*, *Abderhalden* haben gefunden, daß noch viele andere organische Säuren und Aldehyde, außerdem Vitamine und pflanzliche und tierische Extrakte steigernde Eigenschaften auf die Gärtätigkeit der Hefe besitzen. Sie werden Aktivatoren, Stimulatoren genannt und unterscheiden sich in ihrer Wirksamkeit. Die einen beschleunigen dauernd, die anderen nur für kurze Zeit. *Neuberg* fand, daß der Stimulationseffekt mancher Acceleratoren auf die Hefegärung, auch mit lebenden Hefezellen den Effekt einer Temperaturerhöhung ersetzt. Er stellte auch fest, daß die Entfaltung des Stimulationseffekts in einer sehr variablen Konzentrationsbreite geschieht, bis zur tausendfachen Verdünnung in manchen Fällen.

Joachimoglu ist der einzige, der *Schulzes* Versuche, nachdem schon *Euler* auf die Notwendigkeit dazu hingewiesen hatte, nachprüfte. Er

verwandte eine andere Methode zur Bestimmung der Kohlensäure. Er ließ die bei der Gärung entstehende Kohlensäure durch ein Ventil entweichen und bestimmte durch Wägung den Verlust, was nur im Intervall von Stunden geschah. Er untersuchte die Wirkung von Sublimat, Phenol und Chinin. Er stellte dabei nie eine Steigerung fest, obgleich er dieselben Konzentrationen wie *Schulz* verwandte, aber auch dieselbe Art des Hefezusatzes, er benutzte eine 50proz. Hefeaufschwemmung, die er mit der Pipette abmaß. Das Endresultat wird bei mehr oder weniger Hefe dasselbe, aber die Zwischenwerte zeigen Abweichungen, was auch seine Kontrollversuche aufweisen: Beim ersten Versuch 10 Proz., beim zweiten 30 Proz. Unterschied.

Über die Wirkung der Röntgenstrahlen hat soeben *Schneider* berichtet, ebenfalls *Klövekorn*. Eine sichere Wirkung auf Hefe ist bisher nicht nachgewiesen. Der einzige Versuch, der hier mitgeteilt wurde, sollte zeigen, daß eine Wirkung doch vorhanden ist; ausführlich werden die Ergebnisse später besprochen.

Süpfle hat Versuche mit ähnlichen Substanzen, aber statt bei Hefe an Bakterien gemacht; er hat dabei den Einfluß auf das Wachstum geprüft, während hier ein einzelner Vorgang untersucht wird.

Versuche mit kleinsten Dosen auf die Empfindlichkeit des Protoplasmas gehören hierher. *Krawkow* glaubt von manchen Giften Wirksamkeit noch in Dosen von 10^{-32} nachgewiesen zu haben. Ebenfalls hat *Kolisko* an Pflanzenkeimlingen mit Kupfersulfat, Eisensulfat, Antimontrioxydlösungen Versuche gemacht und kommt zu dem Ergebnis, daß diese Substanzen noch in Dosen von 10^{-29} wirksam seien. Meine Versuche an Hefe mit Lösungen, die weiter als 10^{-7} verdünnt waren, hatten auf den Gärungsprozeß keine Einwirkung.

Die Untersuchungen der oben genannten Forscher ergeben in bezug auf die Wirkung der von *Schulz* angewandten Gifte keine Klarheit, auch über die Art und Weise des Zustandekommens einer möglichen Steigerung gibt es keine Erklärung. Bei meinen Versuchen fand ich, daß die Steigerung bei gleichen Versuchsmengen nicht immer dieselben Resultate ergibt, sondern daß sie Schwankungen zeigt, die abhängig sind von der Temperatur und der Art der vorausgehenden Behandlung der Hefe; je höher die Temperatur über 30^0 war, je kürzer die Hefe vor Einbringen der Gifte gärte, um so geringer war die Steigerung. Diese Beobachtung führte zu einer systematischen Untersuchung bei höherer Temperatur. Die beiden Versuche mit Sublimat und Kupfersulfat sind als Beispiele gewählt und zeigen, daß bei dieser Temperatur keine Steigerung auftritt. Alle anderen, nur vorübergehende Steigerung verursachenden Substanzen ergaben das gleiche Resultat.

Versuch mit Sublimat bei 34°.

100 g Hefe, 350 g Zucker, 5600 g Wasser werden auf sieben Flaschen verteilt, nach vorheriger 1½stündiger Gärung. Flasche 1 ist Kontrolle; Flasche 2 erhält 0,8 mg, Flasche 3 1,6 mg, Flasche 4 3,2 mg, Flasche 5 6,2 mg, Flasche 6 9,6 mg, Flasche 7 16,0 mg Sublimat.

Zeit	Kontrolle	0,001 Prom.	0,002 Prom.	0,004 Prom.	0,008 Prom.	0,012 Prom.	0,02 Prom.
10h29 bis 32′	16	0	0	0	0	0	0
10 35′	32	0	0	0	0	0	0
10 38	50	0	0	8	0	0	0
10 45	90	23	18	21	13	7	0
10 52	50	25	20	25	10	10	4
10 57	90	51	43	47	25	15	8
11 08	90	73	66	67	50	36	13
11 19	90	85	76	81	65	42	14
11 30	90	90	83	85	76	46	16
11 39	90	87	85	85	80	52	15
11 49	90	92	87	85	80	55	22
11 59	90	92	86	87	82	58	24
12 45 bis 54	90	89	85	84	84	78	40
1 04	90	88	87	85	86	81	42
1 35 bis 44	90	87	86	87	89	90	50
1 54	90	90	87	90	88	92	51
2 04	90	89	88	89	90	90	51
2 14	90	90	89	90	89	88	53
2 24	90	89	90	90	88	88	58

Der Versuch mit Sublimat bei höherer Temperatur zeigt einen ganz anderen Verlauf als bei niederer Temperatur (siehe dort). Da bei dem einen die Kohlensäureentwicklung viel langsamer verläuft als bei dem anderen, kann die Zeit nicht als Maßstab herangezogen werden, sondern nur die entwickelte Kohlensäure. Die Versuche wurden mit derselben Hefe unter den genau gleichen Umständen bis auf die Temperatur angestellt. Nach Entwicklung der ersten 90 ccm Kohlensäure hat die Flasche 0,001 Prom. bei 22° 97 ccm, bei 34° nur 23 ccm, bei 180 ccm hat dieselbe Konzentration bei 22° 196 ccm, bei 34° 74 ccm erzeugt, bei 450 ccm sind die betreffenden Zahlen 486 und 326 ccm. Hier erst fängt die Flasche 0,001 Prom. bei 34° an, so viel Kubikzentimeter wie die Normalflasche zu erzeugen. Die nächsten Kolonnen geben ähnliche Resultate. Am auffallendsten sind die Zahlen der letzten Kolonne. Dort erholt sich bei 34° die Hefe sehr langsam und kommt nur auf etwas mehr als die Hälfte der Kohlensäureentwicklung der entsprechenden Kolonne bei 22°.

Es ist zu sagen, daß bei dieser Temperatur keine Steigerung über die Norm vorkommt, und daß die Giftwirkung eine viel stärkere ist, als es die langsame Erholung zeigt.

Versuch mit Kupfersulfat bei 34°.

100 g Hefe, 350 g Zucker, 5600 g Wasser werden nach 1½stündiger Gärung in sieben Flaschen gefüllt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 0,8 mg, Flasche 3 1,6 mg, Flasche 4 3,2 mg, Flasche 5 6,4 mg, Flasche 6 9,6 mg, Flasche 7 16,0 mg Kupfersulfat.

Zeit	Kontrolle	0,001 Prom.	0,002 Prom.	0,004 Prom.	0,008 Prom.	0,012 Prom.	0,02 Prom.
10h29 bis 32′	16	0	0	0	0	0	0
10 35′	32	0	0	0	0	0	0
10 38	50	0	10	0	0	0	0
10 45	90	8	30	28	0	4	4
10 52	50	10	26	26	18	12	6
10 57	90	32	55	58	32	34	14
11 08	90	58	78	78	54	56	27
11 19	90	68	80	82	62	70	42
11 30	90	78	84	84	72	74	52
11 40	90	82	88	85	75	76	62
11 50	90	82	88	86	75	76	62
12 00	90	85	88	85	77	75	62
12 45 bis 54	90	85	88	85	82	76	66
1 04	90	84	87	86	84	80	68
1 35 bis 44	90	88	90	87	83	85	80
1 54	90	88	92	88	86	85	83
2 04	90	88	89	90	87	86	84
2 14	90	89	88	90	89	87	86
2 24	90	87	88	87	88	87	88

Kupfersulfat zeigt bei 34° dieselbe Wirkung wie Sublimat. Sämtliche Verdünnungen bleiben ohne Steigerung über die Norm. Die größere Giftwirkung der letzten Kolonnen bei 34° im Vergleich mit dem Kupfersulfat bei 22° ist ebenfalls vorhanden, wenn auch nicht so stark. Vergleicht man hier die 90 ccm der Norm mit der erzeugten Kohlensäure der Konzentration 0,001 Prom., so ergibt sich, daß den ersten 90 ccm bei 22° 70 ccm, bei 34° 8 ccm entsprechen; den ersten 180 ccm entsprechen 175 bzw. 40 ccm; den ersten 270 ccm: 290 bzw. 98 ccm. Nach sehr langer Zeit erreicht das Kupfersulfat bei 34° die Norm. Die nächsten Kolonnen verhalten sich in gleicher Weise. Es fällt auf, daß das Kupfersulfat bei den niederen Konzentrationen schon giftig wirkt, während bei den stärkeren die Wirkung relativ abnimmt. Also auch hier wird bei höherer Temperatur keine Steigerung erzeugt und die hemmende Wirkung nimmt zu.

Versuch mit Natrium formicicum bei 25 bis 30°.

65 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 g Wasser werden der zweistündigen Gärung überlassen, dann auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 10 mg, Flasche 3 40 mg, Flasche 4 200 mg, Flasche 5 800 mg, Flasche 6 2,0 g, Flasche 7 5,0 g Natrium formicicum. Die Temperatur wird langsam von 25 auf 30° gebracht.

Zeit	Kontrolle	0,01 Prom.	0,04 Prom.	0,2 Prom.	0,8 Prom.	2,0 Prom.	5,0 Prom.
11h48′ bis 12h07′	90	85	90	96	86	84	72
12 24	90	87	92	100	98	106	112
12 37	90	85	96	102	102	120	125
12 50	90	89	90	102	104	120	125
2 03 bis 15′	90	87	93	104	111	125	140

Versuche mit Natrium formicicum bei 25 bis 30° (Fortsetzung).

Zeit	Kontrolle	0,01 Prom.	0,04 Prom.	0,2 Prom.	0,8 Prom.	2,0 Prom.	5,0 Prom.
2h28′	90	87	94	103	110	125	140
4 10 bis 50′	90	90	90	100	110	120	125
4 39 „ 50	90	90	94	102	110	125	140
6 02 „ 14	90	92	96	108	120	135	140
6 44 „ 56	90	96	102	120	135	140	148
8 09 „ 33	90	96	108	120	130	145	150
9 27 „ 42	90	100	104	132	170	180	180

Aus diesem Versuch bei niederer Temperatur ist die hohe Steigerung durch Natriumformiat zu ersehen, am Schluß wird eine Mehrleistung bis 100 Proz. erreicht. Durchschnittlich bringt die letzte Flasche eine Steigerung um 50 Proz. zustande. Bei Beginn tritt eine geringe Hemmung auf, die aber sehr rasch verschwindet. Im Vergleich mit der Sublimattabelle ist ein großer Unterschied in der Wirkung festzustellen. Sublimat bringt eine kurzdauernde, die Norm nicht viel übersteigende Steigerung hervor, hier zeigt sich eine dauernde, hohe Vermehrung der Kohlensäureausscheidung, die eher eine Tendenz zur Erhöhung hat. *Schulz* hat zu seinen Versuchen freie Ameisensäure verwandt, ich habe verschiedene Versuche damit angestellt, dabei stets nur eine vorübergehende, nicht 10 Proz. übersteigende Vermehrung gefunden, die also mit der hier vollbrachten Leistung nicht in Vergleich zu stellen ist. Freie Ameisensäure, ebenso Salicylsäure bringen ähnliche Resultate bei der Einwirkung auf die Hefe hervor wie die bisher besprochenen Mittel.

Versuch mit Natriumformiat bei 34 bis 42°.

65 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 g Wasser werden der zweistündigen Gärung überlassen, dann auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 10 mg, Flasche 3 40 mg, Flasche 4 200 mg, Flasche 5 800 mg, Flasche 6 2,0 g, Flasche 7 5,0 g Natriumformiat. Die Temperatur wird von 34° langsam auf 42° erhöht bis zur Mitte des Versuchs, so daß sie viertelstündlich um 2° stieg. Dann wurde die Flamme entfernt, wonach die Temperatur viertelstündlich um 1° fiel.

Zeit	Kontrolle	0,01 Prom.	0,04 Prom.	0,2 Prom.	0,8 Prom.	2,0 Prom.	5,0 Prom.
11h19 bis 28′	90	99	106	110	115	105	100
11 37′	90	96	106	110	115	105	100
11 46	90	90	90	94	105	103	102
11 55	90	87	93	95	96	98	95
12 10	90	90	92	93	92	98	93
12 23	90	89	93	95	98	100	96
12 36	90	89	90	90	95	98	98
12 50	90	90	93	94	98	100	96
1 03	90	95	92	95	100	102	100
1 39 bis 52	90	92	92	95	100	103	105
3 35 „ 48	90	87	95	95	98	100	104
5 50 „ 6h05′	90	90	96	98	98	100	100

Der Beginn dieses Versuchs setzt ungefähr an derselben Stelle ein wie der Versuch bei niederer Temperatur. Die Temperatur wurde langsam auf 42° erhöht, was beim Zeitpunkt 12h23 erreicht ist. Dann sinkt die Temperatur auf 35°, was bei Zeitpunkt 3h35 stattfindet. Zu Beginn zeigt sich dasselbe Bild wie bei der vorigen Tabelle. Bei 34° sind noch Steigerungen bis 28 Proz. möglich. Bei höheren Temperaturen gehen diese zurück, da die Hefe selbst geschädigt wird, trotzdem kommen noch Werte bis 100 vor. Bei absinkender Temperatur erhöht sich die Steigerung nicht mehr auf das frühere Niveau, da die Hefe endgültigen Schaden erlitten hat, was an einer eintretenden Sedimentierung zu sehen ist.

Versuch mit Thyreoidin bei 25 bis 30°.

65 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 g Wasser werden 2 Stunden der Gärung überlassen, dann auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 0,3 g in 20 ccm Wasser aufgeschwemmte Glandula thyreoidea sicca; Flasche 3 0,6 g derselben Glandula thyreoidea *Merck*; Flasche 4 erhält eine Tablette Thyreoiddispert *Krause*; Flasche 5 zwei Tabletten; Flasche 6 sechs Tabletten; Flasche 7 zehn Tabletten Thyreoidindispert. Die Tabletten wurden fein zerrieben, in 20 ccm Wasser aufgeschwemmt und nach einiger Zeit der Hefe zugesetzt. Die Temperatur stieg während des Versuchs langsam von 25 auf 30°.

Zeit	Kontrolle	0,3 g	0,6 g	1 Tabl.	2 Tabl.	6 Tabl.	10 Tabl.
11h30 bis 48′	90	160	170	66	82	70	75
12 07′	90	140	145	80	99	76	80
12 24	90	122	129	86	96	90	84
12 37	90	102	108	92	98	94	88
12 50	90	102	106	92	100	100	90
2 03 bis 15	90	103	108	96	103	104	90
2 28	90	102	110	95	103	104	90
4 10 bis 22	90	108	120	98	103	103	90
4 35	90	118	125	96	96	96	95
6 12 bis 14	90	110	115	98	98	98	93
6 44 „ 56	90	117	118	108	109	109	102
8 09 „ 23	90	126	124	116	120	120	114
9 27 „ 42	90	135	132	129	135	140	126
9 57 „ 10h15′	90	135	132	138	146	150	136

Es wurden zweierlei Thyreoidinpräparate verwandt: Glandula thyreoidea sicca *Merck* und Thyreoiddispert *Krause*. Das *Merck*sche Präparat steigert sofort bis um 90 Proz., nach kurzer Zeit läßt die Wirkung bis auf 17 Proz. nach, um dann wieder auf 45 Proz. zu steigen. Die einzelnen Präparate verhalten sich aber verschieden, manche zeigen die Steigerung am Anfang und am Ende, andere entweder nur am Anfang oder nur am Ende. Thyreoiddispert zeigt nur die später auftretende Steigerung, außerdem wirken davon größere Dosen weniger als mittlere. Auffallend ist auch die starke anfängliche Hemmung zu Beginn des Versuchs, die das *Merck*sche Präparat auch bei Unwirksamkeit in der Steigerung zu Beginn nie aufweist. Gegenüber der Kontrolle leistet Thyreoidin im Durchschnitt optimal 45 bis 50 Proz. mehr als die Norm.

Versuch mit Thyreoidin bei 34 bis 42°.

65 g Hefe, 350 g Zucker, 7000 g Wasser werden 2 Stunden der Gärung überlassen, dann auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 0,3 g Glandula thyreoidea sicca, Flasche 3 0,6 g derselben Glandula thyreoidea *Merck*, Flasche 4 erhält eine Tablette Thyreoiddispert *Krause*, Flasche 5 zwei Tablette, Flasche 6 sechs Tabletten, Flasche 7 zehn Tabletten Thyreoiddispert. Die Substanzen wurden fein zerrieben, in 20 ccm Wasser aufgeschwemmt und nach einiger Zeit der Hefe zugesetzt. Die Temperatur stieg von 34° viertelstündlich um 2°, bis sie 12h 23′ 42° erreichte. Dann fiel sie viertelstündlich um 1°.

Zeit	Kontrolle	0,3 g	0,6 g	1 Tabl.	2 Tabl.	6 Tabl.	10 Tabl.
11h19 bis 28′	90	105	116	118	102	92	120
11 37′	90	108	120	120	110	98	108
11 46	90	95	110	95	90	95	100
11 55	90	94	100	95	90	95	100
12 10	90	100	100	95	90	95	100
12 23	90	94	98	90	90	96	98
12 36	90	99	102	89	90	100	100
12 50	90	100	103	86	90	100	100
1 03	90	101	108	87	92	102	100
1 39 bis 52	90	103	102	91	95	102	103
3 35 „ 48	90	100	108	91	95	102	103
5 50 „ 6h05′	90	105	93	95	94	100	101

Der Versuch mit höherer Temperatur setzt umgefähr an der Stelle ein, die der Spalte 6h44 bis 56′ des ersten Thyreoidinversuchs entspricht. An dem Zeitpunkt 11h19 bis 56′ ist eine Temperatur von 34 bis 35°, wird sie nun höher, so sinken die Werte der Kohlensäureproduktion, doch bleibt auch bei ganz hoher Temperatur (42°) immer noch ein Mehr von 10 Proz. bei Zeitpunkt 12h23′. Wird die Temperatur wieder niedriger, bei 3h 34 bis 40′ herrschen 35°, dann werden die Steigerungswerte wieder erhöht, doch erreichen sie nicht wieder die Anfangshöhe, da durch die hohe Temperatur die Zellen geschädigt wurden.

Es ist sicher, daß Thyreoidin ganz anders wirkt als die bisherigen Gifte. Die Steigerung kann eine Höhe erreichen, die bisher nicht beobachtet wurde. Dazu hält die Steigerung, wenn auch nicht auf gleicher Höhe, doch fortwährend an und kann je nach der Dosis durchschnittlich 20 bis 30 Proz. betragen. Bei solcher Mehrarbeit muß bei längeren Versuchen selbstverständlich von neuem Zucker zugesetzt werden, um dadurch keine Fehlerquellen zu bedingen. Es ist dieses besser, als wenn von Anfang an größere Zuckermengen zugesetzt werden. Dann wirkt Thyreoidin auch noch bei 34° ebensogut wie bei niederer Temperatur, nur bei Erhöhung nimmt die Leistung ab wegen der eintretenden Zellschädigung. Auf die eigentliche Wirkungsweise des Thyreoidins werde ich später zurückkommen, hier wurde es nur wegen der gegensätzlichen Wirkung angeführt.

Zur Vergleichsuntersuchung wurden Substanzen gewählt, die sicher eine dauernde Steigerung bewirkten, Thyreoidin und Natrium formicicum. Thyreoidin war bisher nur in Form des Thyroxins von *Tomita* im *Neuberg*schen Institut untersucht, der eine gewisse Beschleunigung der Hefegärung feststellte, *Fränkel* benutzte einen alkoholischen Extrakt von zahlreichen tierischen Organen, darunter auch der Schilddrüse, als Vitamin, um zu

zeigen, daß diese Extrakte auf die Hefegärung beschleunigend wirken. *Euler* benutzte meist das Ammoniumformiat bei seinen Versuchen, ich wollte der Sicherheit wegen jede Stickstoffquelle ausschließen und nahm das Natriumsalz. Die Versuche wurden bei mittlerer und höherer Temperatur angestellt, um einen Vergleich mit den früheren Resultaten zu bekommen.

Bei 34° haben beide Substanzen noch ihre volle Wirksamkeit, bei derselben Temperatur steigern die anderen Gifte nicht mehr. Es besteht zwischen den vorübergehend steigernden und den dauernd steigernden nicht nur ein gradueller Unterschied, sondern der Angriffspunkt auf die Zelle muß ein anderer sein. Es ist möglich zu sagen, wie es *Neuberg* tut: Der Effekt der Acceleratoren bei der ersten Gruppe ersetzt eine Temperaturerhöhung. Leistet schon die Temperatur das Optimum, dann sind diese Steigerer ohne Wirkung.

Wurde die Vorbehandlung der Hefe verschiedenen Änderungen unterworfen, so stellte sich dabei heraus, daß die später eintretende Steigerung davon abhängig ist, ob die Hefe mehr oder weniger lang mit dem Zucker in Berührung war, ehe das Gift zugesetzt wurde. Ein verkürzter Versuch zeigt das am deutlichsten.

125 g Hefe werden mit 5600 g Wasser von 30° gemischt, häufig umgerührt und nach 1 Stunde auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle; Flasche 2 erhält 2,5 g Natrium formicum, Flasche 3 0,5 g Glandula thyreoidea, Flasche 4 125 mg Jod, Flasche 5 5 mg Phosphor, Flasche 6 1 mg Kupfersulfat, Flasche 7 1 mg Sublimat. Nach 15 Minuten erhalten alle je 50 g Zucker und werden auf 1000 ccm aufgefüllt. Temperatur des Wasserbades 25°.

Zeit	Formiat	Thyreoidin	Jodkali	Phosphor	Kupfersulfat	Sublimat	Normal
11h05 bis 11′	82	95	88	90	86	89	90
11 16′	105	96	93	96	89	90	90
11 21	110	98	94	96	90	91	90
11 25	116	100	90	93	89	89	90
11 30	123	99	86	91	88	86	90
11 35	120	98	87	90	89	88	90
11 40	118	99	89	89	90	89	90
11 45	116	101	90	91	91	92	90

Dieser Versuch und andere ähnliche ergaben, daß die dauernd steigernden Stoffe auch bei dieser Vorbehandlung der Hefe ebenso wie sonst arbeiten, daß dagegen die nur vorübergehend steigernden nur die Norm erreichen. Eine kurzdauernde Mehrleistung geben Jodkali, Natriumchlorid, Phosphor, die aber nur einige Kubikzentimeter Kohlensäure ergibt. Es ist ein großer Unterschied im Verhalten der *Schulz*schen Gifte in bezug auf den Zustand der Hefe zu konstatieren. Es ist folgendes festzuhalten: Die Gruppe der vorübergehend steigernden (*Schulz*sche) Gifte sind in ihrer Wirkung abhängig von Temperatur und Vorbehandlung der Hefe, während die dauernd Steigerungen hervorrufenden ihre Wirkung nur einbüßen, wenn die Zelle mit geschädigt wird.

Betrachtet man die *Schulz*sche Gruppe näher, so läßt sich aus den Tabellen ungefähr die Überproduktion an Kohlensäure errechnen, sie

beträgt 7 bis 300 ccm, wobei von jedem Gifte die maximal arbeitende Kolonne genommen wurde. Die Frage über die Ursache dieser Mehrproduktion war nicht leicht zu beantworten. Zuerst dachte ich an eine Änderung der Bakterienflora, die mit der Hefe zusammenlebt, besonders bei den Sublimat- und Kupfersulfatversuchen. Aber die Zahl der Bakterien verändert sich nicht, überdies hat *Schiller* festgestellt, daß diese Bakterien für die Hefe dringend nötig sind zum Aufbau höherer Stickstoffverbindungen. Eine Wirkung von Nekrotinen im Sinne von *Haberlandt* und *Handovsky* kommt wohl nicht in Betracht, da sie gerade zu Beginn der Gärung am besten wirken müßten, dort ist aber gar keine Erhöhung zu konstatieren. Eine Vergiftung des Zellinnern ist wohl ebenfalls abzulehnen, da die Erholung rasch eintritt und die Zelle dauernd mit dem Gifte in Kontakt bleibt. Wie eine Vergiftung wirkt, ist in der Tabelle von Kaliumbichromat und Arsen zu sehen. Beim Einbringen der Gifte entstehen Änderungen der Konzentration, die die Löslichkeit der Kohlensäure meist vermindern, aber dies hat für das Bestimmen der fortgesetzt abfließenden Kohlensäure keine Bedeutung. So kommt nur noch eine Änderung der Zelloberfläche in Betracht. Die durch die Gifte verursachte Hemmung zeigt, daß der Austausch zwischen Zelle und Gärflüssigkeit gestört ist. Diese Störung wird langsam beseitigt, und es wird vermehrt Kohlensäure ausgeschieden. Es besteht immerhin die Möglichkeit, daß diese Kohlensäure in der Zeit der Hemmung nicht abgegeben wurde und nun zum Vorschein kommt. Es ist möglich, damit einige Resultate zu erklären, doch kommt sofort die Frage, warum kommt bei Temperaturerhöhung und anderer Vorbehandlung der Hefe ein nachträgliches Ausstoßen der durch die Hemmung zurückgehaltenen Kohlensäure nicht vor.

Die 7 bis 300 ccm Kohlensäure, die mehr gebildet werden, zeigen keine fließenden Übergänge unter den einzelnen Giften, sondern es bilden sich Gruppen: unter 10 ccm bilden Jod und Bariumchlorid; zwischen 55 und 130 ccm haben in aufsteigender Reihe Sublimat, Kaliumchlorat, Arsenik, Magnesiumsulfat, Eisenchlorid, Kaliumpermanganat, Kupfersulfat, Kaliumdichromat, Methylviolett, Höhensonne, Kaliumchlorid, Röntgenstrahlen; zwischen 280 bis 300 ccm haben Kochsalz, Phosphor, Jodkali. Weit darüber stehen Natriumsalicylat, Thyreoidin, Natriumformiat.

Bei der Glykogenreaktion mit Jod stellte sich folgendes heraus: Frisch gekaufte Hefe zeigt wechselnde, aber geringe Reaktion; Hefe nach gewöhnlicher zweistündiger Gärung zeigt sehr starke und Hefe bei 34° Temperatur oder am Ende der normalen Gärung geringe Reaktion. Um sicher die gärungsfähige Menge in der Hefe zu bestimmen, habe ich Hefe aus verschiedenen Stadien der Gärung nach vorherigem zweimaligen Ausschleudern 3 Stunden bei 34° gehalten, die in der Hefeflüssigkeit noch vorhandene Kohlensäure durch Wärme in den vorliegenden Auffangzylinder getrieben und nach Abkühlung die entstandene Gasmenge abgelesen. Es ergab sich folgende Menge Kohlensäure auf 1 g Hefe berechnet: Hefe frisch gekauft entwickelt 0,5 bis 1,5 ccm; Hefe nach 2 Stunden Gärung 7 bis 10 ccm; Hefe am Ende der Gärung 1 bis 2 ccm; Hefe nach zweistündiger Aufschwemmung in warmem Wasser ergibt keine Kohlensäure. Daraus folgt, daß die von mir vor Beginn des eigentlichen Versuchs verwandte Hefe ziemlich viel Glykogen enthielt. Hatte die Hefe Glykogen, so gab sie einen Überschuß an Kohlensäure ab, war nur wenig Glykogen vorhanden, so bildete sich nur die normale Menge. Wird die durch Umwandlung des Glykogens mögliche Kohlensäure entsprechend der Hefe-

menge eingesetzt, so ergibt sich, daß ein Überschuß bis 130 ccm auf das Glykogen zurückgeführt werden kann. Darunter fallen die meisten der oben erwähnten Substanzen, ausgenommen Natriumchlorid, Phosphor, Jodkali, sie bilden einen Überschuß, der wahrscheinlich nicht mehr auf das Glykogen zurückgeführt werden kann. Eigenartigerweise sind diese drei Substanzen an anderer Stelle als Ausnahmen aufgetreten: Sie bewirken eine kleine Steigerung auch bei der nicht glykogenhaltigen Hefe, die aber nur sehr gering ist. Es wird wahrscheinlich sich so verhalten: sie üben einen geringen spezifischen Einfluß auf die Hefe aus, der sich bei Anwesenheit von Glykogen potenziert.

Höhere Temperatur, die *Schulz*schen Gifte, Zuckermangel der Gärungsflüssigkeit wirken auf das Glykogen vermindernd. Es ist nun klar, warum diese Gifte im Sinne einer Temperatursteigerung wirkend betrachtet werden können, aber es ist ebenso einleuchtend, warum eine Hemmung der Zuckeraufnahme im Sinne eines Zuckermangels der Gärungsflüssigkeit wirken kann. Bei beiden Vorgängen greift die Zelle auf das naheliegende Glykogen zurück. Natürlich ist es möglich, von einer Wirkung und Gegenwirkung zu sprechen, aber wir sehen, daß die Gegenwirkung eng beschränkt ist.

Bei Betrachtung dieser Ergebnisse sieht es aus, als ob *Schulz* wenigstens theoretisch Recht hat und manche seiner Versuchsergebnisse doch in diesem Sinne verwandt werden können. Er bekommt bei seinen Versuchen starke Ausschläge, die er auf die Wirkung kleiner Dosen zurückführt. Bei meinen Versuchen kommen nur kurzdauernde Steigerungen bis 20 Proz. vor (*Schulz*sche Gruppe), aber ganz vereinzelt, meist geht das Optimum nur bis 10 Proz. Und diese Überproduktion kann in einem Zeitraum von 4 bis 12 Minuten sich abspielen, um dann zurückzugehen. *Schulz* beobachtet nur alle 15 Minuten und erhält dabei Ausschläge im Durchschnitt von 4 mm Quecksilber. Er kann schätzungsweise noch ½ mm bestimmen, 10 Proz. Mehrleistung geben aber nur 0,4 mm Ausschlag, was auf seiner Skala nicht abzulesen ist. Es ist praktisch unmöglich, mit seiner Apparatur die hier gefundenen Resultate zu gewinnen, die im Durchschnitt nur einige Prozente Mehrleistung betragen. Auch seine theoretische Betrachtung ergibt andere Ergebnisse, als das hier gefundene. *Schulz* meint, bei jedem Versuch gibt eine Konzentration ein Optimum, die daneben liegenden Konzentrationen sind aber unwirksam, sie bewegen sich auf dem Indifferenzpunkt. Meine Versuche zeigen eine mögliche Steigerung durch eine größere Anzahl von Konzentrationen, von denen natürlich nicht alle dieselbe Höhe erreichen. Die einzelnen Gifte wirken aber auch nicht gleichartig; bei den einen tritt die Reaktion schnell ein, bei den anderen fällt sie schnell ab. Außerdem ist auch eine spezifische Giftwirkung zu konstatieren, die den Eintritt der Steigerung gar nicht oder nur wenig aufkommen läßt, wie beim Bariumchlorid und Jod.

Von einer Besprechung der dauernd steigernd Wirkenden wird hier abgesehen, da sie nicht in den *Schulz*schen Gedankenkreis gehören und einen ganz anderen Angriffspunkt haben, sie wurden nur herangezogen, um den Gegensatz zu zeigen.

Zusammenfassend ist zu sagen: Es ist möglich, durch die von *Schulz* untersuchten Gifte und andere dazugehörige unter bestimmten Umständen eine vorübergehende Steigerung zu bekommen. Sie ist aber sehr mäßig und abhängig vom Glykogenvorrat der Hefe. Eine größere Steigerung, die nur teilweise mit dem Glykogenvorrat in Zusammen-

hang steht, bewirkt das Natriumchlorid, Jodkali und der Phosphor. Eine vergiftende Wirkung zeigen Bariumchlorid und Kaliumdichromat. Die dauernd Steigernden werden erst später besprochen, da sie ganz anders wirken. Es würde nicht nötig sein, auf diese Versuchsergebnisse so einzugehen, wenn nicht *Schulz* weittragende Schlüsse gezogen hätte und auf dieses wissenschaftliche Ergebnis ein ganzes therapeutisches Gebäude aufbaute; sogar die Homöopathie, ein Teil der „Biochemiker" zieht zum Beweis das *Arndt-Schulz*sche Gesetz heran, aber auch Vertreter der Schulmedizin haben eine Vorliebe dafür, nur mit der Bezeichnung Regel anstatt Gesetz. Es ist auch bestechend einfach und überzeugend. Hätte ich in der praktischen Anwendung nicht die Mißerfolge gesehen, so wäre ich nie darauf gekommen, die Grundlagen nachzuprüfen. Was mit der *Schulz*schen Methode nicht möglich war, habe ich hier mit einer feineren Methode untersucht, habe auch Steigerung gefunden, im Gegensatz zu *Schulz* in einer ziemlichen Konzentrationsbreite, aber diese Steigerung ist so gering, daß sie für einen biologischen Prozeß gar nichts sagt. Außerdem tritt sie nur unter ganz günstigen Bedingungen auf. *Schulz* sagt: „Jeder Umstand, der das physiologische Gleichgewicht einer Zelle oder eines Gemeinwesens von Zellen stört, wirkt als Reiz. Die Zellen antworten auf jeden Reiz, der sie trifft und dabei ein gewisses Maß von Intensität besitzt, durch Veränderung ihrer Tätigkeit." Der Ausgangspunkt dieser Überlegungen waren die hier nachgeprüften Hefeversuche, durch die er das biologische Grundgesetz erwiesen glaubt. Aber sie erweisen gerade das Gegenteil. Die Gifte hemmen stets, was sicher eine Störung des physiologischen Gleichgewichts der Zelle bedeutet; also müßten alle, unabhängig vom Glykogengehalt, eine auf die Hemmung folgende, dieser adäquate Steigerung aufweisen. Das ist aber nicht der Fall.

In der jetzigen Literatur tauchen immer wieder die *Schulz*schen Zahlen auf, es werden immer die Sublimatversuche angeführt und gesagt, daß Sublimat in kleinen Dosen 1 : 700000 die Kohlensäurebildung der Hefe vermehrt. In einem eben erschienenen Büchlein von *Gutherz* habe ich das wieder gefunden. Er versucht außerdem, das *Arndt-Schulz*sche Gesetz mit der *Weigert*schen Lehre von der primären Gewebsschädigung zu verbinden, und meint, bei beiden ist der Grundgedanke, daß durch eine minimale Schädigung der Zelle eine Reizung stattfindet, hier durch Nekrotine, dort durch Gifte. Diese löst eine Superregulation aus und führt so zu einer Hyperbiose. Eine ähnliche Anschauung vertritt *Czapek*, der in dem stimulierenden Effekt von dünnen Giftlösungen einen autoregulatorischen Vorgang erblickt. Diese Anschauung könnte insofern richtig sein, als die Hemmung bei den glykogenhaltigen Zellen schneller überwunden wird, außerdem ertragen sie eine stärkere Giftkonzentration: Hefe mit Glykogen erholt

sich noch bei einer Konzentration von 1 : 50000 Sublimat und 1 : 25000 Kupfersulfat, für Hefe ohne Glykogen sind die entsprechenden Zahlen 1 : 83000 und 1 : 50000.

So muß die von *Schulz* in bezug auf die Hefe vertretene Anschauung, daß schwache Reize anfachen, mittlere steigern und starke hemmen, als allgemeingültig abgelehnt werden. Es gibt bestimmte Substanzen seiner Gruppe, die vorübergehend steigernd wirken können, andere können unter bestimmten Umständen Steigerung vortäuschen, aber nie konnte ein Versuchsergebnis als Reizwirkung ausgedeutet werden. Das *Arndt-Schulz*sche Gesetz hat, wie *Handovsky* sagt, eine Art Berechtigung, nur in der Zone der eben reizenden und tötenden Konzentrationen, da sagt es nichts Neues; sonst ist es nicht anwendbar. *Joachimoglu* meint, wenn es gelänge nachzuweisen, daß kleine Konzentrationen steigern können, dann hätte das Gesetz seine Berechtigung. Hier ist nachgewiesen, daß unter bestimmten Umständen das möglich ist, aber gleichzeitig wurde auch die eigentliche Ursache der Steigerung nachgewiesen. Ein biologischer Effekt, der nur einige Prozent im Höchstfall erreicht, kann nicht als Reiz angesprochen werden.

Die folgende Betrachtung faßt am besten die Ergebnisse zusammen: Durch den Zusatz der Gifte wird der Stoffwechselaustausch der Hefe gehemmt; die Größe der Hemmung wird durch die Konzentration der Gifte bestimmt. Durch Vergärung der in der Zelle noch vorhandenen Substanzen gelingt es ihr, allmählich die Hemmung zu überwinden. Ist viel Glykogen vorhanden, so wird viel Kohlensäure gebildet und die Hemmung um so schneller überwunden. Je schneller das geschieht, um so mehr tritt die Glykogenkohlensäure in Erscheinung. Je größer die im Innern der Zelle gebildete Kohlensäuremenge ist, eine desto größere Hemmung kann sie überwinden.

Ergebnis: Die Versuche von *Schulz* sind fehlerhaft, die Resultate sind nicht verwertbar.

Die von *Schulz* verwandten Gifte bewirken erst eine Verminderung der Kohlensäurebildung, die sich nach einiger Zeit auf die frühere Höhe erhebt. Bei Beginn der Gärung, am Schluß derselben und bei höherer Temperatur enthält die Hefe wenig Glykogen. Wird die Hefe mit Glykogen angereichert, so wird diese bei einer Hemmung der Zuckerzufuhr vergoren und kann eine Steigerung der Kohlensäurewerte bedingen.

Natriumchlorid, Jodkali, Phosphor bewirken eine kleine eigentliche Steigerung, die bei Gegenwart von reichlich Glykogen potenziert wird.

Literatur.

Abderhalden, Handb. d. biol. Arbeitsmeth., Abt. XII, Heft 1: *Pringsheim*, *Bau*, *Linder*. — *Abderhalden* und *Schaumann*, Pflügers Arch. f. ges. Physiol. **172**, 1. — *Euler*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **87**, 142. — *Euler* und *Cassel*, ebendaselbst **86**, 122. — *Fränkel* und *Schwarz*, diese Zeitschr. **112**, 203. — *Fränkel* und *Hager*, ebendaslebst **126**, 189. — *S. Gutherz*, Der Partialtod. Jena 1926. — *Haberlandt*, Biol. Zentralbl. **42**. — *Handovsky*, Münch. Med. Wochenschr. 1925, S. 652; Klin. Wochenschr. 1925, S. 1650. — *Joachimoglu*, diese Zeitschr. **130**, 238. — *Neuberg*, ebendaselbst **88**, 145. — *Neuberg* und *Ehrlich*, ebendaselbst **101**, 239. — *Oppenheimer*, ebendaselbst **93**, 125. — *Klövekorn*, Strahlentherapie **20**, Heft 2. — *Krawkow*, Zeitschr. f. ges. exper. Med. **34**, 279. — *Kolisko*, Nachweis der Wirksamkeit kleinster Entitäten. Stuttgart 1923. — *Sandberg*, diese Zeitschr. **128**, 76. — *Schiller*, Zentralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., Abt. I, Orig., **92**, 124. — *Schneider*, Strahlentherapie **20**, Heft 4. — *Schulz*, Pflügers Arch. f. Physiol. **42**, 517. *Süpfle*, Zentralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., Abt. I, Orig., **89**, 112. — *Tomita*, diese Zeitschr. **131**, 175. — *Czapek*, Biochemie der Pflanzen **1**, 1913. — *Schulz*, Unorganische Arzneistoffe, 1907.

Der Mechanismus der Insulinwirkung.

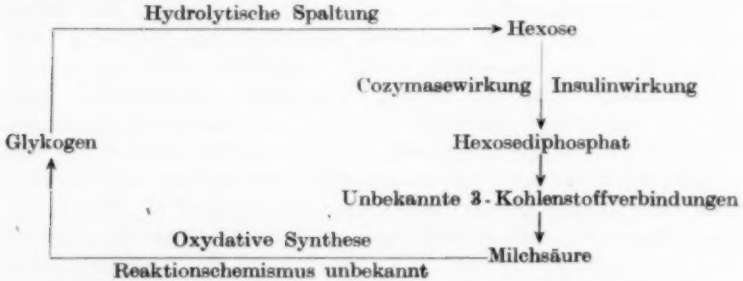
Von

Artturi I. Virtanen.

(Aus dem Laboratorium der Butterexportgesellschaft Valio m. b. H., Helsinki.)

(Eingegangen am 15. Februar 1926.)

Aus dem Befund[1]), daß Insulin die Cozymase bei den Milchsäurebakterien ersetzen kann und folglich als Cozymase wirksam ist, habe ich die Schlußfolgerung gezogen, *daß das Insulin den Zuckerabbau im Organismus fördert, indem es die Zymophosphatbildung aktiviert.* Durch die Zymophosphatbildung wird die Milchsäuregärung wie auch die Milchsäurebildung im Organismus und die alkoholische Gärung eingeleitet, und das Insulin ist darum bei diesem ersten Gärungsstadium tätig. Meine Auffassung von der Insulinwirkung im Organismus geht aus folgendem Schema deutlich hervor:



Die direkte Einwirkung des Insulins ist auf die Aktivierung der Synthese von Hexosediphosphat beschränkt. Welche Bedeutung diese Verbindung bei den Gärungen hat, ist noch nicht klar. So viel scheint festzustehen, daß die Milchsäuregärung — wie auch die alkoholische Gärung — ohne Bildung von Hexosediphosphat nicht abläuft und daß der Zuckerphosphorsäureester als Zwischenprodukt der Milchsäuregärung zu betrachten ist. Wird nun aber die Bildung eines Zwischenprodukts aktiviert, so ist zu erwarten, daß die Bildung des Endprodukts, Milchsäure, auch gefördert wird.

Der Insulininjektion sollte also die Verminderung des freien Phosphats und eine Erhöhung der Milchsäure folgen. In der Tat wird

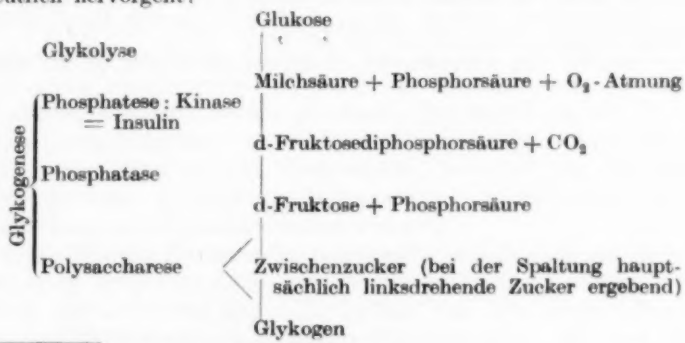
[1]) *Virtanen*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **58**, 696, 1925.

nach der Insulininjektion — mindestens bei größeren Dosen, durch welche die Insulinwirkung am deutlichsten zum Vorschein kommt — stets eine deutliche Milchsäuresteigerung im Blute beobachtet, wie aus den Bestimmungen von *Kuhn* und *Baur*[1]) u. a. deutlich hervorgeht.

Das freie Phosphat sinkt normal auch durch Insulin unter Bildung von Hexosediphosphorsäure[2]), wie unsere Hypothese voraussetzt. Daß die Zunahme von Zymophosphat gewöhnlich nicht stark ist, läßt sich leicht durch die Annahme erklären, daß die Spaltung des Hexosediphosphats etwa in dem Maße wie die Synthese beschleunigt wird. Bei den Gärungen kommt auch häufig die Cozymasewirkung nur als Gärungsbeschleunigung zum Vorschein.

Nach dem obigen Schema steht die Insulinwirkung in keinem direkten Zusammenhang mit Glykogen-auf- oder -abbau. Als Folge der Blutzuckersenkung ist jedoch zu erwarten, daß die hydrolytische Spaltung des Glykogens gesteigert und die Glykogenmenge dadurch vermindert wird. Eine Glykogensteigerung ist aber auch nicht ausgeschlossen. Bei kleineren Insulindosen kann die Blutzuckerverminderung in einem langsameren Tempo als der oxydative Aufbau des Glykogens aus Milchsäure vor sich gehen, wodurch eine Glykogensteigerung möglich wird. Die widersprechenden Resultate mehrerer Forscher betreffend den Glykogengehalt der Leber wären dadurch erklärlich.

Etwa zur selben Zeit, als ich die obige Annahme von der Insulinwirkung dargelegt hatte, kamen *Brugsch* und *Horsters*[3]) auch zu dem Schluß, daß Insulin ein Aktivator der Phosphatese ist. Sie fassen die Insulinwirkung jedoch ganz anders als ich auf, wie aus ihrem Schema[4]) deutlich hervorgeht:



[1]) *Kuhn* und *Baur*, H. **141**, 68, 1924.

[2]) *Audowa* und *Wagner*, Soc. Biol. **90**, 308, 1924; *Lawaczeck*, Klin. Wochenschr. **4**, 1858, 1925; *Maikoff*, *Macleod*, *Markowitz* und *Simpson*, Amer. Journ. Physiol. **74**, 36—48, 1925 u. a.

[3]) *Brugsch* und *Horsters*, diese Zeitschr. **155**, 459, 1925.

[4]) *Brugsch*, *Horsters* und *Vorschütz*, ebendaselbst **158**, 166, 1925.

Das Insulin fördert nach diesen Forschern den Glykogenaufbau, indem es die Hexosediphosphatbildung aus Milchsäure aktiviert. Wenn *Brugsch* und *Horsters* in einer späteren Mitteilung[1]) schreiben: „*Virtanen* kommt daher seinerseits zu dem gleichen Schluß, den wir mit Evidenz aus unserer achten Mitteilung gezogen hatten, daß das Insulin den Zuckerabbau im Organismus fördert, indem es die Zymophosphatbildung aktiviert", so kann ich ihren Satz nicht billigen, weil sie nicht zu dem gleichen Schluß wie ich gekommen sind.

Was dann den Zusammenhang zwischen Insulin und Cozymase betrifft, so kann man konstatieren, daß Insulin und Cozymase im allgemeinen sich gegenseitig nicht ersetzen können. Das geht aus den Untersuchungen von *Euler* und Mitarbeitern[2]) schon deutlich hervor. Insulin und Cozymase sind also miteinander nicht vollständig identisch. Ob die Unterschiede zwischen den beiden Stoffen auf die Begleitstoffe zurückzuführen sind, ist noch unklar. Aus der Tatsache, daß die Cozymase dialysiert, das Insulin dagegen nicht, könnte man vielleicht den Schluß ziehen, daß Insulin mit einem Begleitstoff durch Adsorption eng verbunden ist und deshalb als Cozymase bei den Gärungen im allgemeinen nicht funktionieren kann. Weil das Blut gewaschene Trockenhefe nicht aktiviert und folglich die Cozymase der Hefe nicht enthält, ist es anzunehmen, daß ein anderes, Phosphatase aktivierendes Coenzym im Blute vorkommt. Hexosediphosphatbildung im Blute wäre ohne solchen Aktivator nicht erklärlich. Nach meiner Auffassung ist das Insulin als eine für Blut geeichte Cozymase zu betrachten[3]).

[1]) *Brugsch* und *Horsters*, diese Zeitschr. **164**, 191, 1925.

[2]) *v. Euler* und *Myrbäck*, Chemie d. Zelle u. Gewebe **12**, 57, 1925; *v. Euler, Jorpes* und *Myrbäck*, H. **149**, 60, 1925.

[3]) *Virtanen* und *Karström*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **59**, 45, 1925.

Die aktuelle Reaktion des Gewebssaftes bei normaler und beschleunigter Metamorphose von Rana temporaria.

Von

B. W. Aleschin.

(Aus dem Laboratorium der Hydro-Physiologischen Station Zwenigorod.)

(Eingegangen am 16. Februar 1926.)

Es läßt sich schon a priori erwarten, daß bei der Metamorphose, wenn sich die Struktur und die funktionelle Tätigkeit der Larve der Kaulquappe beim Übergang in die definitive Form von Grund aus verändert, große Veränderungen des physikalisch-chemischen Zustandes des ganzen Organismus eintreten müssen, die einen Ausdruck der Veränderung der Plasmakolloide bilden.

Um die physikalisch-chemische Analyse der Erscheinungen der Metamorphose in Angriff zu nehmen, sind wir bei der Aufklärung des Verhaltens der aktuellen Reaktion des Gewebssaftes stehengeblieben, da die Konzentration der Wasserstoffionen einer der wichtigsten Faktoren ist, welche die Lebenstätigkeit der Zelle regulieren. Da das Thyreoidin eine schroffe und stürmische Beschleunigung der Metamorphose hervorruft, wurden gleichzeitig Untersuchungen sowohl über die normale Metamorphose, als auch über eine durch Thyreoidin beschleunigte angestellt, um festzustellen, inwiefern die erwarteten Veränderungen der aktuellen Reaktion des Gewebssaftes sich als für die Metamorphose charakteristisch erweisen.

Die aktuelle Reaktion des Gewebssaftes wurde nach der Methode von *Gräff* kolorimetrisch festgestellt, vermittelst der Indikatoren von *Clark* (Brom-Thymol-Blue, Phenol-Red und Brom-Cresol-Purple), unter Zuhilfenahme von *Sørensens* Pufferlösungen. Die zur Feststellung der Reaktion bestimmte Kaulquappe wurde mit destilliertem Wasser gewaschen und mit Filtrierpapier abgetrocknet. Dann wurde schnell ein Längsschnitt an der Ventralseite vorgenommen und alle Eingeweide entfernt, da der Inhalt des Darms zu einer starken Veränderung der Reaktion führen könnte. Dabei wurde unumgänglich

das Herz entfernt, wodurch die Entblutung erreicht wurde, da die Hauptmasse des Blutes im Herzen enthalten ist.

Das Körperchen der Kaulquappe wurde dann in einer Porzellanschale untergebracht, mit einer scharfen Schere angeschnitten, um den Gewebssaft herausfließen zu lassen, und sofort mit einer Lösung des Indikators begossen. Die ganze Bestimmung dauerte 2 bis 3 Minuten, und während eines so geringen Zeitraumes konnten keinerlei bedeutende Veränderungen der Reaktion vor sich gehen.

Im ganzen wurden über 800 Messungen vorgenommen, von denen keine einzige einen Widerspruch zutage treten ließ.

Die Untersuchung wurde von dem Stadium des Erscheinens der Anlagen der hinteren Extremitäten an begonnen, da wir in unserer früheren Arbeit (*B. Aleschin*, Some Observations on the Accelerated Metamorphosis by Rana temporaria, Journ. de Biol. expér., Bd. I, S. 52) die Möglichkeit hatten, nachweisen zu können, daß gerade seit diesem Moment die Kaulquappe eine besondere Empfindlichkeit der Wirkung des Inkretes der Thyreoidea gegenüber äußert; die Metamorphose tritt in 2 bis 3 Tagen nach einmaliger Verabreichung des Präparats ein.

In jeder Serie wurden parallele Messungen von thyreoidierten und Kontroll-Individuen vorgenommen (täglich und in vielen Fällen auch zweimal am Tage).

Ferner sind Untersuchungen an Kaulquappen, die ihre Metamorphose normal vollziehen, vorgenommen worden. Da die Ergebnisse dieser Messungen grundlegende Bedeutung haben, so müssen wir zuerst bei diesen stehenbleiben.

Man konnte mit völliger Deutlichkeit feststellen, daß die normale Metamorphose durch einen jähen Sprung der aktuellen Reaktion des Gewebssaftes nach der aciden Richtung hin gekennzeichnet ist. Vor der Metamorphose war die p_H des Gewebssaftes der Kaulquappe gleich 7,1 bis 7,2, d. h. die Reaktion war schwach alkalisch. Diese Höhe des p_H bleibt im Laufe der ganzen Untersuchung vom Beginn des Experiments bis zum Eintritt der Metamorphose erhalten. Sobald nur die letztere beginnt, fällt die p_H sofort bis zu 6,6 bis 6,7. Dabei ist es von Wichtigkeit, zwei charakteristische Momente zu vermerken. Erstens ist die Zunahme der Acidität des Gewebssaftes das erste genau feststellbare Kennzeichen der Metamorphose. Überhaupt meint man gewöhnlich, daß die Metamorphose mit dem Moment des Abfallens der Hornkiefer beginnt. Es erweist sich, daß das Sinken von p_H einige Stunden früher und im äußersten Falle gleichzeitig mit dieser Erscheinung beginnt. Auf diese Weise können wir, falls eine Zunahme der Acidität des Gewebssaftes festgestellt ist, behaupten, daß die gegebene Kaulquappe schon ihre Metamorphose begonnen

hat, obgleich an ihr noch keine äußeren morphologischen Kennzeichen dafür zu bemerken sind.

Zweitens vollzieht sich dieser Zuwachs von Acidität auf einmal, ohne irgendwelche Übergangsstadien. Der gesamte Zyklus der Metamorphose war in 8 Stadien eingeteilt (je nach dem Grade des äußeren Hervortretens des Prozesses) und die aktuelle Reaktion jedes Stadiums wurde nach einer genügend großen Anzahl von einzelnen Vermessungen festgestellt (alle Vermessungen haben sich als identisch erwiesen). Man konnte keinerlei Unterschied in der aktuellen Reaktion der verschiedenen Stadien feststellen, p_H war für alle 6,6 bis 6,7 gleich. Eine derartige Reaktion tritt sofort bei Beginn der Metamorphose ein und hält sich während der ganzen Zeit. Die aktuelle Reaktion des Gewebssaftes des Frosches, der eben die Metamorphose durchgemacht hat, ergibt $p_H = 6{,}6$.

So verläuft der Prozeß bei normaler Metamorphose. Nach Feststellung dieser Tatsachen entsprang natürlich sofort die Frage, in welchem Maße der beobachtete Zuwachs der Acidität des Gewebssaftes für die Metamorphose typisch ist, d. h. ob derselbe eine zufällige, nur dem Zeitpunkt nach mit der Metamorphose zusammenfallende Erscheinung ist, oder ob er mit letzterer eng verbunden ist. Eine Antwort darauf kann bei Beobachtung einer experimentell zu einer von der Norm abweichenden Zeit hervorgerufenen Metamorphose gegeben werden. Da das sicherste Mittel zur Beschleunigung ein Inkret von Thyreoidea ist, so haben wir die Bearbeitung mit diesem Agens angewandt.

Ohne hier auf die Einzelheiten der Experimente einzugehen (die in meiner vollständigen Arbeit, welche zurzeit zur Drucklegung vorbereitet wird, ausführlich dargestellt sind), will ich nur angeben, daß als Präparat von Thyreoidea das Thyreoidin von *Poel* angewandt worden ist, wobei die gewöhnliche Dosierung für das Individuum 0,002 g gleich war. Die Metamorphose begann am dritten Tage nach Verabreichung des Präparats und hatte einen vollkommen typischen Verlauf.

Die Bestimmung von p_H des Gewebssaftes hat auch in diesem Falle eine jähe Steigerung seiner Acidität bis $p_H = 6{,}7$ bis 7,8 aufgedeckt; wobei ebenso wie bei normaler Metamorphose die Veränderung von p_H sofort, ohne Übergangsstadien, vor sich geht.

Die Messungen wurden (bei Beginn der Metamorphose) zwei- bis dreimal täglich vorgenommen, bei einigen Experimenten auch öfters nach Ablauf von 1 bis 2 Stunden, jedoch konnte man keinmal Übergänge beobachten — das Fallen von p_H vollzieht sich plötzlich und sofort bis zur endgültigen Größe.

Bei Variation des Quantums von Thyreoidin sind wir zu folgenden Ergebnissen gelangt. Bei starker Hyperdosierung, wenn die Metamorphose stürmisch eintritt, aber schnell aufhört (vgl. *Romeis*, Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklungsmech. **98**, 1923), hat sich der Umfang der Verschiebung der Reaktion als ein geringerer erwiesen, nämlich bis $p_H = 6{,}9$. Im Gegenteil, im Falle einer Hypodosierung, wenn die Metamorphose bis ungefähr zu

ihrem Mittelpunkt verläuft und dabei stehenbleibt, ist der Umfang der Verschiebung derselbe wie bei der gewöhnlichen Dosierung, d. h. er geht bis $p_H = 6{,}7$ bis 6,8.

Ebenso wie bei normaler Metamorphose ist das Fallen der aktuellen Reaktion das erste Kennzeichen des Eintritts der Metamorphose.

Alle Experimente (und es sind ihrer acht Serien veranstaltet worden), haben vollständig übereinstimmende Resultate ergeben.

Auf Grund dieser sind wir zu folgenden Schlüssen gelangt:

1. Den Daten von *V. Růžička* (Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklungsmech. **101**, 1924) zuwider, ist die Metamorphose von einer plötzlichen Verschiebung der aktuellen Reaktion nach der Seite der Acidität hin begleitet (von $p_H = 7{,}1$ bis $p_H = 6{,}6$).

2. Diese Veränderung der Reaktion ist ein vollständig sicheres Kennzeichen der Metamorphose und dabei das erste dem Eintritt nach gerechnet.

3. Das Steigen der Acidität des Gewebssaftes ist, wie man annehmen muß, nicht Ursache, sondern Folge der Metamorphose, da:

a) Bei Beschleunigung der Metamorphose durch Thyreoidin der Umfang der Reaktionsverschiebung trotz stürmischen Verlaufs des Prozesses der frühere ist. Falls die Steigerung der Acidität die Metamorphose hervorriefe, würde für deren schnelleren und früheren Eintritt eine größere Aciditätszunahme erforderlich sein, in Wirklichkeit ist diese der normalen gleich oder sogar geringer.

b) Besonders scharf tritt das bei Hyperdosierung zutage, wo trotz sehr stürmischen Verlaufs des Prozesses die Veränderung der Konzentration der Wasserstoffionen bedeutend geringer als die normale ist.

Selbstverständlich kann man letztere Schlüsse nur als Vermutungen aussprechen, da sie eine experimentelle Behandlung erfordern. Wir hoffen, daß diese Fragen das Thema unserer künftigen Arbeit sein werden, die wir in diesem Jahre wegen Mangels an Material nicht durchführen können.

Die Beeinflussung der Zuckerbildung der Froschleber durch homologe Alkohole. III.

Von

E. J. Lesser.

(Aus dem Laboratorium der städtischen Krankenanstalten in Mannheim.)

(Eingegangen am 17. Februar 1926.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

I.

In einer kurzen Mitteilung in Pflügers Archiv **211**, 336, 1926, in der *Artur Linksz* zu der Kritik, die ich an seiner ersten Arbeit üben mußte, Stellung zu nehmen versucht, schreibt er: „Als Durchströmungsflüssigkeit verwendete ich nicht, wie *Lesser*, „physiologische" Kochsalzlösung, nicht einmal Ringerlösung, sondern die von *Barkan*, *Broemser* und *Hahn* angegebene Kohlensäure-Bicarbonat-gepufferte modifizierte Ringerlösung mit einem p_H von 7,25"[1]). Daß ich eine reine Kochsalzlösung statt Ringerlösung benutzte, geschah natürlich nicht ohne vorherige Prüfung, ob dies experimentell erlaubt war. Ich hatte früher gezeigt[2]), „daß es für die Zuckerabgabe der Leber gleichgültig ist, ob man sie mit Chlornatrium- oder Ringerlösung durchströmt", woraus ein unvoreingenommener Leser sofort bemerken mußte, daß die Permeabilität der Leberzellmembran für die von mir untersuchten Beeinflussungen der Zuckerabgabe keine Bedeutung hat. Die *Barkan-Hahn-Broemser*sche Durchströmungsflüssigkeit, welche sich von den von mir benutzten erstens durch ihren Phosphatgehalt, zweitens aber dadurch unterscheidet, daß sie erheblich alkalischer ist, hatte ich noch nicht geprüft. Deshalb schien es mir gut, auch einige Versuche mit dieser Durch-

[1]) Der Satz von *Linksz* enthält zwei Unrichtigkeiten. Ich habe niemals von „physiologischer" Kochsalzlösung gesprochen, sondern stets nur von 0,7proz. Ferner verlangen *Barkan*, *Hahn* und *Broemser* für die von ihnen angegebene Lösung zur Durchströmung der Froschniere ein p_H von 7,60, während *Linksz* 7,25, also erheblich weniger alkalisch angibt. *Barkan*, *Broemser* und *Hahn*, Zeitschr. f. Biol. **74**, 1, 1921.

[2]) Diese Zeitschr. **119**, 116, 1921.

strömungsflüssigkeit anzustellen, deren p_H meist durch die Gaskette nach *Michaelis*, gelegentlich auch nach der *Sörensen* schen Indikatoren methode vor und nach dem Versuch bestimmt wurde.

Da die Herstellung des Kohlensäure-Sauerstoffgemisches mit den von *Barkan* und Mitarbeitern angegebenen sehr einfachen und bequemen Mitteln nicht sehr genau sein kann, habe ich die Zusammensetzung des Gases, das rund 3 Proz. Kohlensäure enthalten soll, stets durch Gasanalyse im *Haldane*-Apparat vor Beginn des Versuchs geprüft. Abgesehen von der Veränderung, welche die Durchströmungsflüssigkeit betraf, war die Versuchsmethodik genau die gleiche wie in den in der zweiten Mitteilung[1]) beschriebenen Versuchen. Es wurden zwei Versuchsreihen angestellt, die eine bei p_H 7,60 (Original-Barkanlösung), die andere bei p_H 7,4 (erhöhte CO_2-Spannung). Letzteres geschah, weil eine p_H von 7,6 schon recht weit vom Optimum der Diastase entfernt liegt und ich früher die p_H der Froschleber als zwischen 6,92 und 7,08 liegend geschätzt hatte. Als oberflächenaktiver Stoff wurde dieses Mal nur Propylalkohol gewählt; die Verdünnung wurde in folgender Weise hergestellt: In einem 400-ccm-Meßkolben wurden etwa 370 ccm der noch nicht mit dem CO_2, O_2-Gemisch gesättigten Barkanlösung gegeben. Hierzu wurden unter starkem Schütteln tropfenweise 19,6 ccm Propylalkohol zugesetzt, dann mit Barkanlösung auf 400 ccm aufgefüllt und nunmehr in der Durchströmungsflasche mit dem CO_2, O_2-Gemisch gesättigt. Wenn man so verfährt, bekommt die Lösung höchstens eine Opaleszenz, aber es kommt nicht zu einem Ausfallen von Calciumsalzen.

Die Versuche wurden sämtlich in den ersten beiden Februarwochen angestellt. Dies war dadurch möglich, daß die als Versuchstiere dienenden Frösche, welche im Oktober vorigen Jahres gefangen waren, im Freien in einer tiefen mit Moos gefüllten Grube gehalten wurden, in der sie einen natürlichen Winterschlaf durchmachten. Etwa 3 bis 4 Tage vor dem Versuch wurden die Tiere aus der Grube genommen und kamen in einen ungeheizten Raum bei etwa 10^0 Außentemperatur in Gefäße mit Wasser. Ihre Lebern waren sehr glykogenreich, enthielten zwischen 10 und 20 Proz. Glykogen. Zu bemerken ist noch, daß die Durchströmungsgeschwindigkeit etwas erhöht wurde, so daß in allen Versuchen etwa 1 ccm pro Minute durch die Leber lief.

II.

Die Ergebnisse der beiden Versuchsreihen sind in Tabelle I und den Abb. 1 und 2 wiedergegeben.

[1]) Diese Zeitschr. **156**, 161, 1925.

Tabelle I.

Versuch	Zuckerabgabe in mg pro 100 g Leber in Periode 1	2	3	4	5	6	7	8	p_H der Barkanlösung	Bemerkungen
A	126	80	470	540	320	250	—	—	7,60	Zu Beginn der Periode 3 läuft 20′ lang Propylalkohol-Barkanlösung durch die Leber.
B	141	54	116	192	95	108	—	—		Zu Beginn der Periode 3 läuft 10′ lang Propylalkohol-Barkanlösung durch die Leber.
C	75	47	154	127	39	62	—	—		Wie bei Versuch B.
D	120	100	81	54	50	69	96	—		Normalversuch.
E	133	133	320	315	199	152	—	—	7,40	Zu Beginn der Periode 3 läuft 15′ lang Propylalkohol-Barkanlösung durch die Leber.
F	186	145	470	435	205	136	114	104		Zu Beginn der Periode 3 läuft 20′ lang Propylalkohol-Barkanlösung durch die Leber.
G	136	—*)	88	133	154	146	130	110		Normalversuche.
H	166	162	170	104	111	107	107	96		

*) Bestimmung verloren.

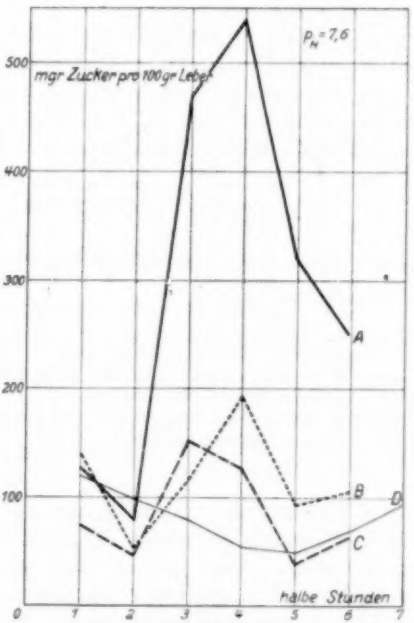


Abb. 1.

—— Versuch A zu Beginn der 3. Periode läuft 20 Minuten lang Propylalkohol-Barkanlösung durch die Leber.
····· Versuch B } Zu Beginn der 3. Periode läuft 10 Minuten lang
- - - - - Versuch C } Propylalkohol-Barkanlösung durch die Leber.
—— Versuch D. Es läuft während des ganzen Versuches unveränderte Barkanlösung durch die Leber.
p_H sämtlicher Versuche 7,60.

Die Tabelle und die Abbildungen zeigen, daß die Durchströmung der Froschleber mit der *Barkan-Hahn-Broemser*schen Lösung bei Zusatz von Propylalkohol in einer Menge von 4,9 ccm auf 100 ccm Lösung genau dieselbe Wirkung auf die Froschleber hat, wie die Durchströmung mit reiner 0,7 proz. Kochsalzlösung und Propylalkohol. Man erhält in beiden Fällen mit absoluter Regelmäßigkeit eine Steigerung

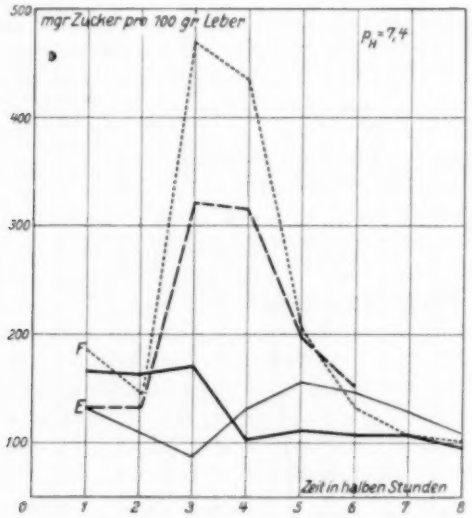


Abb. 2.

------ Versuch E. Zu Beginn der 3. Periode läuft 15 Minuten lang Propylalkohol-Barkan durch die Leber.

..... Versuch F. Zu Beginn der 3. Periode läuft 20 Minuten lang Propylalkohol-Barkan durch die Leber.

—— Versuch G und H. Kontrollversuche mit reiner Barkanlösung.

p_H sämtlicher Versuche 7,40.

der Zuckerabgabe auf das Dreifache und mehr, und nach kürzerer oder längerer Zeit kehrt die Zuckerabgabe wieder zur Norm zurück, d. h. die Beeinflussung ist reversibel. Nun besteht aber immer noch eine Differenz zwischen der Versuchsanordnung von *Linksz* und der meinigen. *Linksz* bestimmt die Zuckerabgabe in noch kürzeren Perioden als 30 Minuten, nämlich in 8 Minuten und in 12,5 Minuten. Es wäre ja möglich, daß die erste Wirkung des Propylalkohols darin bestände, die Zuckerabgabe der Leber zu senken, daß dieser Vorgang aber durch eine nachfolgende stärkere Abgabe überkompensiert würde, so daß er bei 30 Minuten dauernden Perioden nicht zum Vorschein käme. Warum ich so

kurze Durchspülungsperioden wie 8 Minuten nicht für zweckmäßig halte, habe ich in der zweiten Mitteilung S. 165 angedeutet. Es ist außerdem, je kürzer die Periode dauert, um so schwieriger, die Durchströmungsgeschwindigkeit gleichmäßig zu gestalten. Die Leber reagiert auf den Propylalkohol regelmäßig mit einer Gefäßkontraktion, so daß man den Druck, unter dem durchströmt wird, erst erhöhen und dann wieder herabsetzen muß. Um aber jede Möglichkeit, daß an den *Linksz*schen Angaben doch etwas Richtiges sein könne, zu prüfen, habe ich die halbstündigen Perioden in einigen Versuchen noch weiter unterteilt, und zwar in Perioden von 10 Minuten. Dabei wurde die Grenze, bis zu der die Mikrozuckerbestimmung nach *Michaelis* geht, zweimal gestreift. Das Ergebnis dieser Versuche zeigt die Tabelle II und die Abb. 3, 4 und 5. Ich habe die Tabelle II absichtlich in genau der Form wiedergegeben, wie sie von *Linksz* benutzt worden ist. Man erkennt, daß in allen drei Fällen, auch bei Abkürzung der Versuchsperioden auf 10 Minuten, stets bereits in den ersten 10 Minuten, in denen Propylalkohol durch die Leber läuft, eine deutliche Steigerung der Zuckerabgabe erfolgt. Sie beträgt einmal das Dreifache, einmal das Doppelte, einmal die Hälfte der Vorperiode, wie das durch die Abb. 3 bis 5 noch besonders klargestellt wird. Ich habe nunmehr alles, was möglich war, versucht, um das *Linksz*sche Resultat zu reproduzieren. Es ist mir auf keine Weise gelungen.

Tabelle II.

Dauer der Periode Min.	Durchströmungsflüssigkeit	Durchgeflossene Menge ccm	Glucose mg	p_H der Lösung	Bemerkungen
30	Barkansche Lösung	31	2,8		
20	„ „	22	1,5		
10	„ „	11	0,25		
10	Propylalkohol-Barkan	10	0,48	7,60	Abbildung 3.
10	Barkansche Lösung	10	3,00		
30	„ „	32	6,7		
30	„ „	31	1,0		
30	„ „	30	2,3		
30	„ „	32	3,4		
20	„ „	22	1,0		
10	„ „	11	0,30	7,60	Abbildung 4.
10	Propylalkohol-Barkan	9	0,96		
30	Barkansche Lösung	32	3,0		
30	„ „	30,5	3,0		
10	Propylalkohol-Barkan	9,5	1,4		
10	„ „	9,5	2,2		
10	Barkansche Lösung	10,0	3,6	7,40	Abbildung 5.
30	„ „	30,0	7,1		
30	„ „	30,5	4,5		
30	„ „	30,0	3,4		

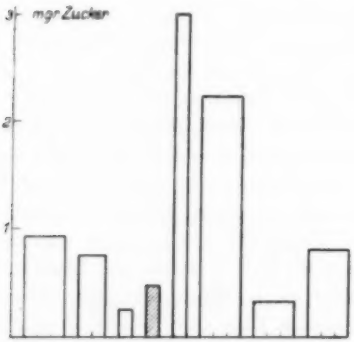


Abb. 3.

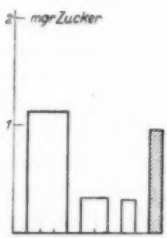


Abb. 4

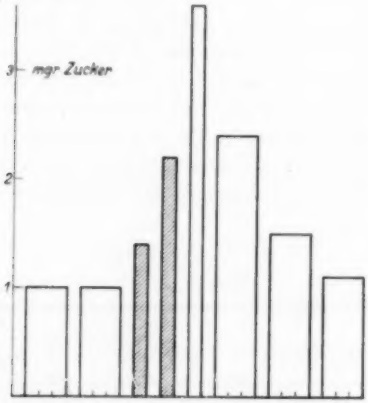


Abb. 5.

Die Flächen der Rechtecke stellen in Abb. 3, 4 und 5 die jeweils im ganzen bestimmten Zuckermengen dar. Die Höhen der Rechtecke stellen die in 10 Minuten abgegebenen Zuckermengen dar. Die geschwärzten Rechtecke bedeuten Perioden mit Propylalkohol-Barkanlösung.

Die Zusammenfassung der Ergebnisse dieser neuen Versuche kann daher nur ebenso lauten, wie die meiner zweiten Abhandlung:

1. Durch 10 bis 20 Minuten dauernde Durchströmung der herausgeschnittenen Froschleber in den Wintermonaten mit der von ***Barkan***, ***Broemser*** und ***Hahn*** angegebenen Lösung, welche Propylalkohol in der von ***Warburg*** angegebenen Konzentration enthält, steigt die Zuckerabgabe — und zwar bereits in den ersten 10 Minuten — auf das Zwei- bis Sechsfache.

2. Diese Beeinflussung der Zuckerabgabe ist reversibel.

3. Sämtliche diesbezüglichen Angaben von ***Artur Linksz***[1]) sind falsch.

[1]) Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **204**, 572, 1924; **211**, 335, 1926.

Untersuchungen über Cholesterin- und Lecithinsuspensionen.

Von

P. Rona und **W. Deutsch.**

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität, Berlin.)

(Eingegangen am 17. Februar 1926.)

Bei der großen Bedeutung, die das Cholesterin und Lecithin im Organismus einnehmen, erscheint es nicht überflüssig, trotz der großen Zahl vorliegender Untersuchungen das Thema über Lecithin- und Cholesterinsuspensionen erneut in Angriff zu nehmen.

Methodik.

Herstellung der Cholesterinsuspensionen in Anlehnung an Porges und Neubauer.

Porges und *Neubauer* trugen in Aceton gelöstes Cholesterin in kleinen Portionen in Wasser ein, nachdem jedesmal vor dem Zulassen einer neuen Portion das Aceton im Becherglas auf dem Wasserbad bei gelinder Wärme vertrieben war.

Wir verfuhren folgendermaßen: Cholesterin (*Kahlbaum*), etwa 0,4 g in 40 ccm Aceton (aus der Bisulfitverbindung) gelöst, befanden sich in einem Scheidetrichter. In eine Saugflasche mit 200 ccm Leitfähigkeitswasser, die in einem Wasserbad von etwa 60 bis 70° C hing, führten durch einen Gummistopfen das Rohr des Scheidetrichters, das so hoch über der Flüssigkeitsoberfläche endete, daß es durch heftiges Aufwirbeln derselben nicht benetzt wurde, und gleichzeitig ein Glasrohr bis zum Boden der Saugflasche. Mit der Wasserstrahlpumpe wurde nun dauernd Luft durch das Wasser gesogen, die es so heftig aufwirbelte, daß sich die in Abständen von etwa 5 Minuten zugelassenen Mengen der Cholesterinlösung (jedesmal etwa 1 ccm) sofort verteilten. Die angesogene Luft passierte ein Blättchen angefeuchtetes Filtrierpapier, das sich gegen die äußere Mündung des Luftrohres preßte. Nachdem die Cholesterinsuspension die gewünschte Dichtigkeit erreicht hatte und das Aceton vollständig vertrieben war, wurde sie filtriert. Da sich während der Herstellung der Suspension ein Teil des Cholesterins nicht kolloidal verteilt, sondern in gröberen Flocken abscheidet, wurde eine quantitative Bestimmung des in den Versuchen als Endkonzentration vorhandenen Cholesterins nach *Autenrieth* vorgenommen. Er betrug nach der Verdünnung der jeweiligen Stammsuspension von 1 bis 2 ccm auf 10 ccm 0,008 bis 0,01 g-Proz. Die Einstellung auf die gleiche Konzentration innerhalb verschiedener Versuche geschah

durch Vergleich des Trübungsgrades der verschiedenen Suspensionen in Reagenzgläsern gleichen Durchmessers. Die Cholesterinstammlösung wurde nicht länger als 6 Tage benutzt, obwohl sie nach 4 Wochen äußerlich keine Veränderung zeigte, bis auf einen feinsten Anflug von Bodensatz, der immerhin auf eine gewisse, ganz allmähliche Dispersitätsvergröberung schließen läßt.

Herstellung der Lecithinsuspensionen.

Im Prinzip war es das gleiche Verfahren wie beim Cholesterin. Etwa 4 g reinsten Lecithins ex ovo (*Merck*) wurden in etwa 40 ccm reinsten redestillierten Äthers gelöst. Langsames Zugeben zum Wasser (200 ccm) erübrigt sich. Unter starkem Umschwenken der Saugflasche wurde in drei Portionen die ätherische Lecithinlösung zugegossen und dann ohne Erwärmung mit der Saugpumpe Luft durchgesogen, bis der Äther vollständig verdunstet war. Die endgültige Lecithinkonzentration nach Verdünnung der Stammlösung (1 bis 2 ccm) auf 10 ccm wurde einmal quantitativ nephelometrisch als P_2O_5 nach Veraschung bestimmt und in den übrigen Versuchen durch Vergleich des Trübungsgrades in gleichen Reagenzgläsern wieder eingestellt. Sie betrug immer 0,4 g-Proz., wenn nicht anders angegeben ist. Die Lecithinstammlösung wurde nicht länger als 3 bis 4 Tage benutzt, weil sich dann zuweilen Flocken abscheiden. Ihre Haltbarkeit ist geringer als die der Cholesterinsuspension.

Versuchsmethodik.

Bei allen Versuchen kamen reinste Chemikalien (*Kahlbaum*) und für sämtliche Vorratslösungen sowie für Verdünnung Leitfähigkeitswasser zur Verwendung. Überhaupt mußte bei der Empfindlichkeit der reinen Cholesterinsuspensionen auf peinlichste Sauberkeit geachtet werden, z. B. wurde streng vermieden, die gereinigten Reagenzgläser an ihrem Rande zu berühren.

Um beim Ansetzen der Versuchsreihen eine gleichmäßige Art der Durchmischung und Zusatzgeschwindigkeit zu erzielen, wurden in eine Reihe von Reagenzgläsern die Salzlösungen bzw. Puffergemische + Salzlösungen pipettiert, in eine zweite Reihe korrespondierend die Suspension + dem dazugehörigen Verdünnungswasser. Dann wurde die Salzlösung durch schnelles Zusammengießen mit der Suspension und zweimaliges Hin- und Hergießen gründlich vermischt. (Endvolumen in jedem Röhrchen bei allen Versuchen 10 ccm.)

Sämtliche Puffergemische kamen in $^1/_{100}$ Normalität zur Anwendung. Die Abstufung des übrigen Salzgehalts erfolgte im allgemeinen als geometrische Reihe mit dem Quotienten 2.

p_H-*Messung.* Alle p_H-Messungen wurden elektrometrisch ausgeführt. An Cholesterinlösungen in U-Elektroden, weil Chinhydronmessung ungenaue Werte ergibt, bei Lecithin zuweilen auch mit Chinhydron. Das endgültige Potential bei Benutzung der U-Elektroden für Cholesterin stellt sich zuweilen erst nach 1 bis 1½ Stunden ein und schwankt häufig um ± 2 Millivolt. Den Chinhydronmessungen wurde der erste Wert direkt nach dem Vermischen zugrunde gelegt. Die Messungen einiger Versuchsreihen mit ungepufferten Lösungen und sehr geringem Salzgehalt wurden zur Erhöhung der Leitfähigkeit unter Zugabe von geringen Mengen NaCl ausgeführt.

Registrierung der Flockung.

In allen Fällen, in denen die Flockung langsam einsetzte, wurde die Ablesung bei Tageslicht gegen ein helles Fenster, bei Lampenlicht gegen zwischengeschaltete Mattglasscheibe mit Lupe (12mal. Vergrößerung) vorgenommen, um den Beginn der Flockung zu erfassen, weil sich mit ihrem Fortschreiten zuweilen die feineren Unterschiede verwischen. Je nach der Geschwindigkeit der Flockung erfolgte ihre Ablesung in kürzeren (5 bis 10 Minuten) oder längeren ($\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde) Abständen und wurde über mehrere Stunden verfolgt. Außerdem wurde das Endergebnis am nächsten Tage registriert, wobei sich die Grenzkonzentrationen oft schärfer abheben.

In den folgenden Tabellen bedeuten:

Sp = Spur
vst = vollständig
vst– = vollständig minus

d. h. die Flockung hatte sich großenteils abgesetzt. Je nach dem Grade des Absetzens sind Minuszeichen angefügt.

I. H-Ionenflockung bei Cholesterin.

Zur Feststellung der Flockung durch H-Ionen wurden einerseits Reihen mit Na-Lactat- und Na-Tartratpuffern von abgestuftem p_H (Differenz etwa 0,3 p_H), andererseits Reihen mit abgestuftem HCl-Gehalt ohne Puffer angesetzt. Dabei zeigte sich eine geringe Schwankungsbreite zwischen verschiedenen sonst praktisch gleichartig hergestellten Cholesterinsuspensionen. Die Flockungsgrenze zwischen stabil bleibender und flockender Suspension war unabhängig von der Art des zugesetzten Puffers und lag zwischen p_H 2,4 und 3,2, während sie für die HCl-Flockung um p_H 2,4 liegt, wegen der fehlenden additiven Wirkung der Na-Ionen. Einer kürzlich erschienenen Angabe von *R. Stern*[1]) zufolge soll der Grenzwert bei $p_H = 5{,}0$ liegen. Ob diese Differenz gegen unsere Ergebnisse durch seine andere Herstellungsart der Suspension oder durch höheren Elektrolytgehalt der verwandten Pufferlösung (Molarität ist nicht angegeben) veranlaßt ist, bleibt dahingestellt.

Tabelle I.

„Milchsäureflockung". Reihe angesetzt um 11 Uhr 25 Minuten.

Natriumlactat, m/10	1	1	1	1	1	1	1
Milchsäure, m/1	1,6	0,8	0,4	0,2			
„ m/10					1	0,5	0,25
Cholesterinsuspension . . .	2	2	2	2	2	2	2
Aqua dest.	5,4	6,2	6,6	6,8	6,0	6,5	6,75
Flockungsgrad um 12h00' . .	×××	0	0	0	0	0	0
„ 1 45 . .	×××××	××	0	0	0	0	0
„ 4 15 . .	vst	×××××	0	0	0	0	0
12. XII. 1925 um 9 30 . .	vst	vst	××	0	0	0	0
p_H gemessen	—	2,87	3,09	3,55	—	—	—

[1]) *R. Stern*, Klin. Wochenschr., 4. Jahrg., 1925, S. 1650.

Tabelle II. „Salzsäureflockung". Reihe angesetzt um 2 Uhr 10 Minuten.

	1	2	3	4	5
HCl, m/100	8,2	6,4	4,6	2,8	1
Cholesterinsuspension	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Aqua dest.	0	1,6	3,4	5,2	7,0
Flockungsgrad 20. XII. um 4h30'	×××××	××	Sp	0	0
„ 21. XII. um 9h30'	vst	vst	vst	0	0
p_H gemessen	—	2,21	2,47	2,54	—

II. Flockung durch Salze bei Cholesterin.

Nachdem die Flockungsgrenze für H-Ionen festgestellt war, wurde zunächst der Einfluß von Salzen mit verschiedenem Kation aber gleichem Anion (Cl) bei einem p_H untersucht, der sich zwar möglichst nahe an der Flockungsgrenze aber mehr im alkalischen Gebiet befand. p_H wurde variiert. Die große Abhängigkeit vom p_H zeigen folgende Versuchsergebnisse.

Tabelle III. Versuch 15. 31. Juli 1925. „Soll" p_H 2,4. „NaCl".

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Endkonzentr. an NaCl	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	0	0
Na-Tartrat, m/10	1	1	1	1	1	1	1	1	0
Weinsäure, m/1	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0
NaCl, m/1	5	2,5	1,25	0,625					
NaCl, m/10					3,13	1,56	0,78	0	0
Cholesterinsusp.	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Leitf.-Wasser	1,6	4,1	5,35	5,98	3,47	5,04	5,82	6,6	8
Reihe angesetzt um 12h.									
Flockungsgrad um 1h05'	××	××	×	± ×	×	Sp	0	0	0
„ 1 30	×××	×××	××	×	×	×	×	±	0
„ 4 30	×××××	×××	×××	×××	×××	××	××	±	0
1. VII. um 9h30'	vst	vst	vst	vst	vst –	vst – –	××	×	0
p_H gemessen	—	2,23	—	2,40	—	2,57	—	2,59	—

Das Kontrollröhrchen 8 zeigt nur ganz geringe Flockung. Die Grenzkonzentration liegt bei m/64 bis m/128.

Tabelle IV. Versuch 14. „NaCl". Anordnung wie Versuch 15, nur bei „Soll p_H" 3,0. Reihe angesetzt um 3 Uhr 25 Minuten mit der gleichen Suspension wie Versuch 15.

	1	2	3	4	5	6	7	8
Endkonzentr. an NaCl	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	0
Flockungsgrad 30. VII. um 4h55'	×××	×××	××	×	0	0	0	0
„ 5 10	××××	××××	××	×	0	0	0	0
„ 5 30	×××××	×××××	×××	×	0	0	0	0
31. VII. um 9h30'	vst	vst	vst	vst –	0	0	0	0
p_H gemessen	—	2,47	—	—	—	3,02	—	—

Das Kontrollröhrchen 8 hat nicht geflockt.

An diesen Beispielen zeigt sich, daß die Flockungsgrenzkonzentration des Neutralsalzes beim Übergang vom etwa p_H 2,5 auf etwa p_H 3,0 ansteigt von m/128 auf m/16 bis m/32. Da aber bei der angewandten Konzentration des Puffers von $^1/_{100}$ Molarität die höheren Konzentrationen an Neutralsalz von etwa m/16 bis m/2 eine zunehmende Verschiebung des p_H ins Saure bewirken infolge der Vergrößerung der Dissoziationskonstante der Puffersäure, fanden diese Versuche bei nicht ganz streng konstantem p_H statt, so daß ein Teil der Wirkung bei den höheren Konzentrationen auf Rechnung der H-Ionen kommt. Eine diesen Umstand berücksichtigende Anwendung von Puffern mit abgestuftem p_H ändert an dem Ergebnis der festgestellten Grenzkonzentration von m/64 bis m/128 für p_H 2,5 nichts, da bei ihr die Verschiebung nach der sauren Seite zu gering ist.

Versuchsbeispiel für Konstanthaltung des p_H durch abgestufte Puffergemische.

Tabelle V.

Versuch 20. 5. August 1925.

Durchschnitts-„Soll p_H" 2,4. „NaCl".

	1	2	3	4	5	6	7	8
Weinsaures Puffergem. p_H 2,7	1,2	1,2						
Weinsaures Puffergem. p_H 2,6			1,3	1,3				
Weinsaures Puffergem. p_H 2,5					1,3			
Weinsaures Puffergem. p_H 2,4						1,4	1,4	1,4
NaCl, m/1	5	2,5	1,25	0,625				0
NaCl, m/10					3,13	1,56	0,78	0
Cholesterinsuspens.								
Aqua dest.	1,8	4,3	5,5	6,1	3,6	5,1	5,8	6,6

Reihe angesetzt um 3 Uhr 5 Minuten.

	1	2	3	4	5	6	7	8
	Endkonzentration an NaCl							
	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	0
Flockungsgrad um 3h45′	××	××	×	×	×	×	0	0
Flockungsgrad um 4 15	××××	××××	×××	××	××	×	Sp	0
Flockungsgrad um 4 30	××××	××××	×××	×××	×××	××	×	Sp
Flockungsgrad um 5 30	×××××	×××××	××××	××××	××××	×××	××	×
p_H gem.	2,52	2,55	2,55	2,59	2,50	2,42	2,47	2,47

Prinzipiell gleich verhalten sich die übrigen untersuchten Alkalien KCl (mit Lactatpuffer untersucht), NH_4Cl, LiCl, CsCl und RbCl. Wenn sich eine Suspension etwas empfindlicher zeigte, so daß also schon die nur Puffer enthaltende Kontrolle stärker flockte, dann wurde mit dem „Soll p_H" etwas mehr ins Alkalische gerückt.

Für die Erdalkalien $BaCl_2$ und $CaCl_2$ ergab sich eine wesentlich tiefer liegende Grenzkonzentration von etwa m/2048 bis m/4096, entsprechend der höheren Wertigkeit des Kations.

Wenden wir uns nun der Untersuchung dreiwertiger Kationen, wie Al- und Cero-Ionen, zu, so ergibt sich wiederum eine noch tiefer liegende Grenzkonzentration als bei den Erdalkalien bis herunter zu etwa m/150000.

Aber der absolute Wert ist wegen des Auftretens der Erscheinung der unregelmäßigen Reihen und der hierbei stärker ins Gewicht fallenden, etwas differenten Stabilität verschiedener Cholesterinsuspensionen schwieriger anzugeben. Fällt nämlich ein Flockungsminimum gerade zwischen zwei Glieder der Reihe, so ist man sich im Unklaren, ob die Zone der Anionen- oder Kationenflockung vorliegt. Stuft man aber die Reihen mit einem feineren Quotienten, etwa 1,5, ab, so gestalten sich die Versuche dadurch schwieriger, daß die an sich feineren Differenzen zwischen den einzelnen Gliedern schneller durch das Fortschreiten der Flockung verwischt werden.

Als Beispiel sei der zeitliche Verlauf des Flockungsgrades eines Versuchs mit $AlCl_3$ bei p_H 3,2 wiedergegeben. Quotient der Reihe 1,5.

Tabelle VI.

Reihe angesetzt um 2 Uhr. „$AlCl_3$". „Soll p_H 3,2".

	m/2592	m/3888	m/5822	m/8748	m/13122
Um 3h00′	××××	××××	××	×	Sp
„ 5 00	vst	vst – –	×××××	××××	Sp
p_H gem.				2,90	

	m/19683	m/29525	m/44287	m/66430	m/99645	m/149467
Um 3h00′	±	0	0	0	0	0
„ 5 00	Sp	Sp	Sp	Sp	Sp	0
p_H gem.			2,90			

Prinzipiell gleich verhält sich Cerochlorid.

Dieselbe Art von Versuchen wurde nun für p_H 5,0 und ohne Pufferzusatz durchgeführt.

Tabelle VII.

Versuch 39. Beispiel: „NaCl". „Soll p_H" 5,0.

Reihe angesetzt um 1 Uhr 45 Minuten.

	m/2	m/4	m/8	m/16
6. X. um 2h45′ . .	×××	×	Sp	0
„ 3 20 . .		kaum verändert		
„ 3 50 . .	××××	×××	×	0
„ 4 45 . .	×××××	××××	×+	0
7. X. um 9h30′ . .	vst	vst –	vst – – –	0

Bei dieser Abstufung der Reihe (Quotient 2) verhielten sich die Alkalien völlig gleich, erst bei kleiner gewähltem Quotienten (1,2) kamen geringe Unterschiede zwischen $Na^{\cdot}$, $K^{\cdot}$, $NH_4^{\cdot}$ und $Li^{\cdot}$ zum Vorschein, die aber fast in der Fehlerbreite der Versuche liegen.

Tabelle VIII.

8. Oktober 1925. Reihen angesetzt um 1 Uhr. „Soll p_H" 5,0.
Flockung um 4 Uhr 45 Minuten.

	m/8	m/9,6	m/11,5	m/13,81	m/16,6
NaCl . .	Sp	0	0	0	0
KCl . .	Sp	0	0	0	0
NH_4Cl .	×	Sp +	Sp	0	0
LiCl . .	Sp	Sp	0	0	0

9. Oktober 1925.
Flockung um 9 Uhr 30 Minuten.

	m/8	m/9,6	m/11,5	m/13,81	m16,6
Na . . .	××××	Sp +	Sp	0	0
KCl . .	××××	×	Sp +	Sp	0
NH_4Cl .	vst –	vst – –	××	×	±
LiCl . .	vst – –	vst – – –	×+	×	0

NH_4 und $Li^{\cdot}$ waren also um ein Geringes wirksamer.

p_H-Messung: m/9,6 NaCl . . . . . p_H 4,8
m/11,5 KCl . . . . . p_H 4,86
m/13,81 NH_4Cl . . . . p_H 4,86
m/13,81 LiCl. . . . . p_H 4,83

Gegenüber den Versuchen mit den Alkalien bei etwa p_H 3,4 ist ein Hinaufrücken der flockenden Salzkonzentration von m/64 bis m/128 auf etwa m/8 bis m/16 festzustellen. Derselben Erscheinung begegnet man auch bei den folgenden Versuchen mit dreiwertigem Kation und eine weitere Verschiebung um ein Geringes bei den Versuchen ohne Puffer.

Für $BaCl_2$ und $CaCl_2$ ist die Grenzkonzentration bei p_H 5,0 m/256 bis m/512, ohne Puffer p_H etwa 6,7 m/128 bis m/256.

Der Verlauf der Versuche mit dreiwertigem Kation sei am Beispiel des $AlCl_3$ wiedergegeben, wegen des differenten Verhaltens der unregelmäßigen Reihe.

Tabelle I.

„Soll p_H" 5,0. „$AlCl_3$". (Versuch 167 III.

	1	2	3	4	5	6	7
	m/512	m/768	m/1152	m/1728	m/2592	m/3888	m/5832
Flockungsgrad							
18. XII. 2h00′	××	×	Sp	×	××	××+	×××
2 30	×××	××	×	×××	××××	×××××	×××××
3 10	××××+	××××	××+	×××××	×××××	vst —	vst —
19. XII. 9h30′	vst	vst	vst	vst	vst	vst	vst
p_H gemessen	4,8	—	—	4,94	—	—	4,97

Derselbe Versuch ohne Puffer zeigt folgenden Verlauf:

Flockungsgrad							
4h10′	×+	×	Sp	0	0	0	0
19. XII.	××××+	××××	Sp +	0	0	0	0
p_H gemessen	3,60	—	—	—	3,98	—	—

Zunächst fällt beim Vergleich beider Versuche auf, daß der Versuch mit Puffer wesentlich schneller flockt als der ohne Puffer. Ferner zeigt die Erscheinung der unregelmäßigen Reihe Besonderheiten. Die untere Flockungsgrenze ist auch hier, wie schon oben allgemein erwähnt, mit m/29525 bis m/44287 im Versuch ohne Puffer gegenüber m/44287 bis m/66450 im Versuch mit Puffer hinaufgerückt. Die Zone geringster Stabilität, d. h. stärkster Erniedrigung des kritischen Potentials, liegt beim Pufferversuch von m/8748 bis m/13122, im anderen von m/19683 bis m/29525, also tiefer. Zu beiden Seiten des oben erwähnten Gebietes der maximalen Flockung erstreckt sich die Zone des kritischen Potentials. Während nun im Pufferversuch die Um- und Aufladung des Sols durch die Aluminiumionen nicht mehr zu vollständiger Stabilisierung desselben führt, sondern die Flockung über ein Minimum bei m/1152 fließend in die Cl-Ionen-Flockung übergeht, finden wir im Versuch ohne Puffer eine breite Zone völliger Stabilität (m/1728 bis m/6748) auf Kosten der hier stark verschmälerten Zone zwischen den kritischen Potentialen (m/13122 bis m/29525). Der Übergang in die Cl-Ionenflockung findet an derselben Stelle (m/1152) statt wie im Pufferversuch. Die Flockung ist aber viel schwächer als dort.

Überblicken wir noch einmal zusammengefaßt die Versuchsresultate, so ergibt sich:

1. Eine große Empfindlichkeit des hydrophilen Cholesterinsols gegen H-Ionen. Flockungsgrenze p_H 2,4 bis 3,2 bei m/100 Puffergemisch. Nach der alkalischen Seite der angegebenen Grenze besteht Stabilität, nach der sauren Seite zunehmende Flockung.

2. Je höher die Wertigkeit des flockenden Kations ist, eine um so geringere Konzentration genügt zur Flockung.

Tabelle IX.

Reihe angesetzt um 12 Uhr 30 Minuten. Quotient der Reihe = 1,5.

7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
m/5832	m/8748	m/13122	m/19683	m/29525	m/44287	m/66430	m/99645	m/149467	m/224201
××× ×××× vst — vst 4,97	××× ×××××× vst vst —	××× ×××××× vst vst —	××⁺ ×××× vst – – – vst 5,01	×⁺ ××⁺ ××××× vst —	Sp Sp Sp ×× —	0 0 0 0 —	0 0 0 0 —	0 0 0 0 —	0 0 0 0 —
Verlauf	Reihe angesetzt um 12 Uhr 40 Minuten.								
0 0 —	0 0 —	×× vst – – – 6,00	×××× vst —	×××× vst —	0 0 6,24	0 0 —	0 0 —	0 0 —	0 0 —

3. $H^{\cdot}$-Ionen und die jeweilig angewandten Kationen addieren sich in ihrer Wirkung.

Tabelle X.

Flockungsgrenzkonzentrationen für Salze verschiedener Wertigkeit.

	1wertiges Kation	2wertiges Kation	3wertiges Kation
Mit p_H 2,7—3,2	m/16—m/32	m/2048—m/4086	m/150 000
Puffer p_H 5,0	m/8 —m/16	m/256 —m/512	m/44 287—m/66 450
Ohne Puffer p_H 6,5	m/8 —m/16	m/128 —m/256	m/29 525—m/44 287

III. Versuche an Lecithinsuspensionen.

Allgemeine Bemerkungen zur Lecithinflockung. In weit höherem Maße als bei Cholesterin machen sich beim Ansetzen der Reihen mit Lecithin die Zonen späterer Flockung bzw. Dispersitätsveränderungen, die auch nach langer Zeit noch nicht zur Flockung führen, durch starke Trübung kenntlich. Wenn im folgenden von Flockungsgrenzkonzentration gesprochen wird, sind nur solche Röhrchen gemeint, in denen wirklich Flockenbildung eintrat.

Flockung durch H-Ionen.

Die Versuchsmethodik schließt sich in allen Einzelheiten an die beim Cholesterin befolgte an, so daß die Angabe der Resultate genügt. Es ergeben sich keine Unterschiede, wenn die Flockung durch HCl oder Tartratpuffer hervorgerufen wird. Dieses Resultat ist bei dem viel hydrophileren Verhalten des Lecithins nicht verwunderlich. Der geringe Gehalt an Na-Tartrat (m/100) fällt nicht ins Gewicht. Das *von uns benutzte* Lecithinpräparat zeigte eine Flockungsgrenze bei p_H 1,73 bis 1,75.

Flockung durch Salze bei Lecithin.

Auf Grund der Versuche über H-Ionenflockung wurde zunächst ein p_H gewählt, das in der Nähe der Flockungsgrenze, aber etwas mehr im Alkalischen lag, und zwar p_H 2,0 bis 2,2.

Die Flockung verläuft bei den Alkalien völlig gleich, aber viel langsamer als beim Cholesterin. Sie setzt erst etwa 20 Stunden nach dem Ansetzen des Versuchs ein.

Tabelle XI.

Beispiel: „NaCl". Reihe angesetzt um 2 Uhr 30 Minuten.
„Soll p_H" = 2,0 durch Tartratpuffer.

	1	2	3	4	5	6	7	8
Endkonzentration an NaCl	2,5 m	2 m	m/1	m/2	m/4	m/8	m/16	0
Flockungsgrad								
23. X. um 5h00′ .	0	0	0	0	0	0	0	0
24. X. „ 9 30 .	0	0	0	×	××	0	0	0
„ 1 35 .	0	0	××	×××	×××	××	0	0
p_H gem. (Chinhydr.)	1,85	1,92	2,01	2,09	2,23	2,29	2,31	2,30

Das Flockungsoptimum liegt also bei m/2 bis m/4.

Für $BaCl_2$ und $CaCl_2$ ergibt sich folgendes Bild:

Tabelle XII.

Reihen angesetzt um 3 Uhr. „Soll p_H" 2,0 (Tartratpuffer).
„$BaCl_2$" und „$CaCl_2$".

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Endkonz. an Salz	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	m/256	m/512	m/1024
Flockungsgrad										
26. X. 3h30′	0	0	0	0	×	0	0	0	0	0
5 00	0	0	0	××	×××	Sp	0	0	0	0
27. X. 9 30	0	×××	×××	×××	×××	××	0	0	0	0
p_H gemessen (Chinhydr.)	1,83	1,97	2,12	2,22	2,29	2,37	2,43	—	—	—
Flockungsgrad										
26. X. 3h30′	0	0	0	0	×	×	0	0	0	0
5 00	0	0	0	Sp	×××	×××	0	0	0	0
27. X. 9 30	0	×××	×××	×××	×××	×××	××	0	0	0
p_H gemessen (Chinhydr.)	—	1,88	2,03	2,18	2,32	2,42	2,51	2,55	—	—

„$BaCl_2$" / „$CaCl_2$"

Gegenüber den Alkalien sind die Hauptunterschiede die bedeutend schnellere Flockung (Beginn 30 Minuten nach dem Ansetzen) und das tiefer liegende Optimum, das bei $BaCl_2$ bei m/32, bei $CaCl_2$ etwas breiter, bei m/32 bis m/64 liegt, wie überhaupt $CaCl_2$ an Wirksamkeit $BaCl_2$ etwas übertrifft, denn am nächsten Tage reicht die $CaCl_2$-Flockung bis m/128, $BaCl_2$ aber nur bis m/64.

Tabelle XIII.

Aluminiumchlorid und Cerochlorid. „Soll p_H" 2,2 (Tartratpuffer). Reihe angesetzt um 11 Uhr 45 Minuten. „$AlCl_3$".

Endkonzentr. an $AlCl_3$	m/2,86	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	m/256	m/512	m/1024	m/2048	m/4096	m/8192	m/16384	m/32768
Flockungsgrad															
27. X. um 11h50′	0	0	0	0	0	0	0	0	0	×	×	0	0	0	0
„ 12 55	×	Sp	0	0	0	0	0	0	0	vst	vst	0	0	0	0
„ 1 10	××⁺	Sp⁺	0	0	0	0	0	0	0	vst	vst	0	0	0	0
„ 1 50	vst–	×××	0	0	0	0	0	0	0	vst	vst	Sp⁺	0	0	0
„ 5 35	vst	vst	×	0	0	0	0	0	0	vst	vst	vst–	0	0	0
28. X. „ 9 30	vst	vst	vst	0	0	0	0	0	0	vst	vst	vst	0	0	0
p_H gem. (Chinhydr.)	—	—	1,64	—	—	—	2,17	—	—	2,42	2,44	2,46	—	—	—

Tabelle XIV. „Soll p_H" 2,2 (Tartratpuffer). Reihe angesetzt um 4 Uhr 40 Minuten. „$CeCl_3$".

Endkonzentr. an $CeCl_3$	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	m/256	m/512	m/1024	m/2048	m/4096	m/8192	m/16384	m/32768
Flockungsgrad															
27. X. um 4h45′	0	0	0	0	0	0	0	0	Sp	0	0	0	0	0	0
„ 5 10	0	0	0	0	0	0	0	0	×××	×	0	0	0	0	0
„ 5 35	0	0	0	0	0	0	0	0	vst–	×××	0	0	0	0	0
27. X. „ 9 30	vst	vst	Sp	0	0	0	0	×××	vst	vst	0	0	0	0	0
p_H gem. (Chinhydr.)	—	1,34	—	—	—	—	2,12	2,29	2,39	—	—	—	—	—	—

Tabelle XV. Reihen angesetzt um 1 Uhr 20 Minuten. „Soll p_H" 5,0 (Acetatpuffer). „$BaCl_2$" und „$CaCl_2$".

Endkonzentration an Salz	0,8 m	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	m/256	m/512	
Flockungsgrad											
29. X. um 1h35′	0	0	0	0	Sp	0	0	0	0	0	„$BaCl_2$"
„ 2 05	0	0	0	0	×	Sp	0	0	0	0	„$BaCl_2$"
„ 4 15	0	0	0	××	×××	××	0	0	0	0	„$BaCl_2$"
30. X. „ 9 30	0	0	×××	vst	vst	vst	0	0	0	0	„$BaCl_2$"
p_H gem. (Chinhydron)	—	4,14	4,51	4,63	4,81	4,94	5,07	—	—	—	
Flockungsgrad											
29. X. um 1h35′	0	0	0	0	0	Sp	0	0	0	0	„$CaCl_2$"
„ 2 05	0	0	0	0	0	××	Sp	0	0	0	„$CaCl_2$"
„ 4 15	0	0	0	×	××××	×××××	××	0	0	0	„$CaCl_2$"
30. X. „ 9 30	0	0	×××	vst	vst	vst	vst–	0	0	0	„$CaCl_2$"
p_H gem. (Chinhydron)	—	4,16	4,43	4,61	4,78	4,94	5,12	—	—	—	

Aluminium und Cer verhalten sich prinzipiell gleich. Cer ist etwas schwächer wirksam. Die Flockung geht in der optimalen Zone noch viel schneller als bei den Erdalkalien (5 Minuten nach dem Ansetzen). Außerdem haben sie zwei Zonen, 1) von m/2 bis m/8 und 2) bei Aluminium m/1024 bis m/4096, bei Cer m/256 bis m/1024. Der Charakter der Flockung ist in diesen beiden Zonen verschieden. Während sich die Suspension in der weniger konzentrierten Zone schnell absetzt und die überstehende Flüssigkeit fast wasserklar ist, geht die Flockung im konzentrierteren Gebiet viel langsamer vor sich und hinterläßt eine trübere, überstehende Flüssigkeit.

Die p_H-Messungen zeigen, daß die Pufferung bei höheren Salzkonzentrationen nach der saueren Seite durchbrochen ist, so daß die Wasserstoffzahl schon oberhalb der Flockungsgrenzkonzentration für H-Ionen liegt. Daß die Flockung diesem Umstand allein aber nicht zuzuschreiben ist, beweisen die späteren Versuche bei alkalischerem p_H, die ebenfalls in der Zone m/2 bis m/8 Flockung zeigen.

Salzflockung an Lecithin bei p_H 5,0.

Die untersuchten Alkalien NaCl, RbCl, NH_4Cl und LiCl flocken sämtlich auch nach 5 Tagen nicht.

Bei den Erdalkalien $BaCl_2$ und $CaCl_2$ begegnen wir fast dem gleichen Verhalten wie bei p_H 2,0. (Tabelle XV.)

Auch $AlCl_3$ und $CeCl_3$ zeigen nur geringe Verschiebungen. (Tabelle XVI und XVII.)

Salzflockung an Lecithin ohne Pufferzusatz.

Außer LiCl, das nach 4 Tagen geringe Flockung (m/1 Sp., m/2 ×) zeigte, flockten die übrigen Alkalien gar nicht.

Die Erdalkalien zeigen wieder das gleiche Verhalten, wie bei p_H 5,0 (mit Puffer). (Tabelle XVIII.)

Bei $AlCl_3$ und $CeCl_3$ ist außer geringer Verschiebung des Optimums nach rechts nur hervorzuheben, daß die Flockung erheblich schneller verläuft. Im Optimum setzt sie *momentan* ein, während sie bei den Versuchen mit Puffer erst nach 5 Minuten begann. (Tabelle XIX.)

Der Versuch mit $CeCl_3$ verläuft völlig gleich.

Zusammengestellt ergeben die Versuche mit Salzen an Lecithin Tabelle XX.

Im ganzen betrachtet, erweisen sich also die Alkalien als recht unwirksam. Nur bei p_H 2,0 wirkten sie fällend. Bedeutend stärker flockten $BaCl_2$ und $CaCl_2$, was sich sowohl in der geringeren optimalen Konzentration wie in der Zeit bis zum Flockungsbeginn ausspricht

Tabelle XVI. Reihe angesetzt um 3 Uhr 30 Minuten. „Soll p_H" 5,0 (Acetatpuffer). „$AlCl_3$".

Endkonzentration an Salz	m/2,86	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	m/256	m/512	m/1024	m/2048	m/4096	m/8192	m/16 384	m/32 768
Flockungsgrad															
29. X. um 3h35′	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Sp	0	0	0	0
„ 4 20	××	×	0	0	0	0	0	0	0	0	××××××	0	0	0	0
30. X. „ 9 30	vst	vst	0	0	0	0	0	0	0	0	vst	0	0	0	0
p_H gem. (Chinhydron)	—	2,7	3,02	—	—	—	4,23	—	—	5,19	5,36	5,44	—	—	—

Tabelle XVII. Reihe angesetzt um 4 Uhr 45 Minuten. „Soll p_H" 5,0 (Acetatpuffer). „$CeCl_3$".

Endkonzentr. an $CeCl_3$	m/2,86	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	m/256	m/512	m/1024	m/2048	m/4096	m/8192	m/16 384	m/38 768
Flockungsgrad															
5. XI. um 4h57′	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Sp	×	0	0	0
6. XI. „ 9 30	vst	vst	0	0	0	0	0	0	0	0	vst	vst	0	0	0
p_H gem. (Chinhydron)	—	3,43	—	—	—	—	4,68	—	—	—	5,03	—	—	—	—

Tabelle XVIII. Reihe angesetzt um 2 Uhr 20 Minuten. Kein Pufferszuatz. 1. „$BaCl_2$", „2. $CaCl_2$".

Endkonzentration an Salz	0,8 m	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	m/256	
Flockungsgrad 30. X. um 2h30′	0	0	0	0	Sp	Sp	0	0	0	$BaCl_2$
„ 3 35	0	0	0	Sp	×	×	0	0	0	
„ 5 14	0	0	0	××	××	××	0	0	0	
31. X. „ 9 30	0	0	vst	vst	vst	vst	0	0	0	
p_H gemessen (Chinhydron)	—	3,54	3,71	3,77	3,95	3,98	4,22	4,34	—	
Flockungsgrad 30. X. um 2h30′	0	0	0	0	0	×	×	0	0	$CaCl_2$
„ 3 35	0	0	0	0	×	××	×××	0	0	
„ 5 14	0	0	0	×	××	×××	××××	0	0	
31. X. „ 9 30	0	Sp	vst	vst	vst	vst	vst	±	0	
p_H gemessen (Chinhydron)	—	3,37	3,68	3,82	3,99	4,18	4,26	4,23	—	

Tabelle XIX.

Reihe angesetzt um 5 Uhr 5 Minuten.

Endkonzentration an $AlCl_3$	m/2,86	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	m/256	m/512	m/1024	m/2048	m/4096	m/8192	m/16 384
Flockungsgrad												Fl.-B. momentan	fast momentan	
30. X. 5h10′	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	××	×	0
31. X. 9h30′	vst	vst	0	0	0	0	0	0	0	0	0	vst	vst	0
p_H gemessen (Chinhydr.)	2,53	2,65	2,89	—	—	—	3,66	—	—	—	4,17	4,17	4,21	4,28

Tabelle XX.

p_H 2,0	p_H 5,0	Ohne Puffer
NaCl, KCl, NH_4Cl, LiCl: Optimum m/2–m/4, Fl.-B. n. 20h	Keine Flockung während 5 T.	Ganz geringe Flockung bei Li m/1–m/3 nach 3 T.
$BaCl_2$ Opt. m/32 Fl.-B. m/4–m/64 a. n. T.	m/16 Fl.-B. m/4–m/32 a. n. T.	m/16–m/32 Fl.-B. m/4–m/32 a. n. T.
$CaCl_2$ „ m/32–m/64 n. 10′ m/4–m/128	m/32 n. 10′ m/4–m/64	m/32–m/64 n. 10′ m/4–m/64
Flockungszone: obere / untere	Flockungszone: obere / untere	Flockungszone: obere / untere
$AlCl_3$ m/2,86–m/8 a. n. T. / m/1024–m/2048 n. 5′, m/1024–m/4096 a. n. T.	m/2,86–m/4 a. n. T. / m/2048 n. 5′, m/2048 a. n. T.	m/2,86–m/4 a. n. T. / m/4096–m/8192 momentan, ebenso a. n. T.
$CaCl_2$ m/2–m/8. a. n. T. / m/512 –m/1024 n. 5′, m/256 –m/1024 a. n. T.	m/2,86–m/4 a. n. T. / m/2048–m/4096 n. 5′, m/2048–m/4096 a. n. T.	m/2,86–m/4 a. n. T / m/4096–m/8192 momentan, ebenso a. n. T.

Fl.-B. = Flockungsbeginn. a. n. T. = am nächsten Tage.

und noch stärker $AlCl_3$ und $CeCl_3$, bei denen zwei Zonen auftreten. p_H-Unterschiede sind von wesentlich geringerer Bedeutung als beim Cholesterin.

IV. Versuche mit Salzgemischen an Cholesterin bei „Soll p_H" 3,0 und 5,0.

Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß zu einer abgestuften NaCl-Reihe zunächst wieder bei p_H 3,0 eine etwas unterhalb der Grenzkonzentration bleibende konstante $CaCl_2$-Menge gegeben wurde. Nebenbei liefen Kontrollen 1. mit NaCl ohne $CaCl_2$, 2. mit $CaCl_2$ ohne NaCl, 3. ohne Salz, nur mit Puffer. Dabei zeigte sich ein Synergismus. (Tabelle XXI.)

Ein Vergleich der Röhrchen 6 und 6a zeigt die Wirksamkeit der Anwesenheit des $CaCl_2$. Noch deutlicher wurde der Synergismus als wir mit der $CaCl_2$-Konzentration noch um ein Geringes hinaufgingen. (Tabelle XXII.)

Die Flockung ist nicht nur stark nach rechts verbreitert (siehe Kontrollen und Tabelle III), sondern die Beschleunigung der Flockung ist eine so erhebliche (siehe Röhrchen 1 und 2: die Flockung beginnt stark nach einer Minute), daß man fast von Potenzierung der Wirkung des Salzgemisches sprechen kann.

Daß es nicht etwa an der Erhöhung des Gesamtelektrolytgehalts durch Zufügung von $CaCl_2$ liegt, beweist folgendes Versuchsprotokoll, bei dem die Molarität (und somit die Kationenkonzentration) in jedem Röhrchen sich in der üblichen Weise mit dem Quotienten 2 abstuft, der entsprechende Teil an NaCl für das zugefügte $CaCl_2$ aber fortgelassen wurde.

Tabelle XXIII.

Versuch 119. $CaCl_2$ konstant m/2048. NaCl variiert. „Soll p_H" 3,0. Reihe angesetzt um 2 Uhr 19 Minuten.

Gesamtelektrolytgehalt	m/128	m/256	m/512	m/1024
Endkonzentration an NaCl	m/136,5	m/292,6	m/682,7	m/2048
Endkonzentration an $CaCl_2$	m/2048	m/2048	m/2048	m/2048
Flockungsrad 11. XI. $2^h42'$.	×	±	0	0
3 30 .	××××	×	Sp	0
12. XI. 9 30 .	vst	vst –	vst – –	Sp

Auch hier ist die Flockung nach rechts erweitert und beschleunigt. Dieser Synergismus wurde nun auch für p_H 5 und für die Kombination NaCl + $AlCl_3$ bei p_H 3,0 und 5 gefunden.

Der Veränderung des p_H entsprechend, mußten auch die Zusatzkonzentrationen an $CaCl_2$ bzw. $AlCl_3$ passend ausgewählt werden. (Tabelle XXIV, XXV und XXVI.)

Tabelle XXI.

Versuch 117. „Soll p_H" 3,0 durch Lactatpuffer. Reihe angesetzt um 1 Uhr 4 Minuten. NaCl variiert + $CaCl_2$ m/4096 konstant.

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10*)	6a*)	7a*)
Endkonzentration an NaCl	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	0	0	0	m/64	m/128
Endkonzentration an $CaCl_2$	m/4096	m/4096	m/4096	m/4096	m/4096	m/4096	m/4096	m/4096	0	0	0	0
NaCl, m/1	5	2,5	1,25	0,625	0,31							
„ „ m/10						1,56	0,78				1,56	0,78
$CaCl_2$, m/1000	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4		0	0	0
Lactatpuffergem., p_H 3,0	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	0	1,3	1,3
Cholesterinsuspension	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Aqua dest.	0	2,8	3,05	3,67	3,99	2,74	3,52	4,3	6,7	8,0	5,14	5,92
Flockungsgrad												
10. XI. um 1h35'	××	×⁺	×	×	Sp	0	0	0	0	0	0	0
„ 2 08	××××	××××	×××	××	×	Sp	0	0	0	0	0	0
„ 3 05	××××××	××××××	××××	×××	××	Sp⁺	0	0	0	0	0	0
11. XI. „ 9 30	vst	vst	vst	vst–	vst– –	×××	0	0	0	0	0	0
„ 12 20	vst	vst	vst	vst	vst	fast vst	0	0	0	0	Sp	0
p_H gemessen	—	—	—	—	—	3,05	3,01	3,02	2,94	—	2,99	3,03

*) Kontrolle.

Tabelle XXII.

Versuch 118. „Soll p_H" 3,0 (Lactatpuffer). Reihe angesetzt um 1 Uhr 2 Min. NaCl variiert + $CaCl_2$ m/2048 konstant.

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8*)	9*)	3a*)	4a*)
Endkonzentration an NaCl	m/16	m/32	m/64	m/128	m/256	m/512	m/1024	0	0	m/64	m/128
Endkonzentration an $CaCl_2$	m/2048	m/2048	m/2048	m/2048	m/2048	m/2048	m/2048	m/2048	0	0	0
Flockungsgrad											
11. XI. um 1h03'	××⁺	××⁺	0	0	0	0	0	0	0	0	0
„ 1 07	××××××	××××	×	0	0	0	0	0	0	0	0
„ 1 20	vst	××××××	×××	Sp	0	0	0	0	0	0	0
„ 1 45	vst	vst	×××××	×⁺	×	Sp	0	0	0	0	0
„ 1 55	vst	vst	vst	×××	××	×⁺	Sp	0	0	0	0
12. XI. „ 9 30	vst	vst	vst	vst–	vst– –	vst– – –	××	Sp	0	Sp	0
p_H gemessen	—	2,98	—	3,03	—	3,03	—	2,98	—	—	—

*) Kontrolle.

*) Kontrolle.

Tabelle XXIV.

Versuch 120. „Soll p_H" 5,0 (Acetatpuffer). NaCl variiert + $CaCl_2$ konstant m/512. Reihe angesetzt um 10 Uhr 47 Min.

Endkonzentration an NaCl	m/16	m/32	m/64	m/128	m/256	0 *)	0 *)	m/64 *)	m/128 *)
Endkonzentration an $CaCl_2$	m/512	m/512	m/512	m/512	m/512	m/512	0	0	0
Flockungsgrad 12. XI. um 11h01'	×	Sp	±	0	0	0	0	0	0
„ 12 15	×××××	×××××	×××	×+	Sp	0	0	0	0
„ 1 04	vst –	vst – –	××××	×××	Sp	±	0	0	0
„ 3 15	vst	vst	vst –	vst – – –	×	±	0	0	0
13. XI. „ 9 30	vst	vst	vst	vst	vst – – –	×	0	0	0
p_H gemessen	—	—	4,74	4,74	—	4,77	—	4,81	4,77

*) Kontrolle.

Tabelle XXV.

Versuch 121. „Soll p_H" 3,0 (Lactatpuffer). NaCl variiert + $AlCl_3$ konstant m/16384.

Endkonzentration an NaCl	m/32	m/64	m/128	m/256	m/512	m/1024	m/2048	m/4096	0 *)	0 *)	m/64 *)	m/128 *)
Endkonzentration an $AlCl_3$	m/16384	m/16384	m/16384	m/16384	m/16384	m/16384	m/16384	m/16384	m/16384	0	0	0
Flockungsgrad												
12. XI. um 12h35' . .	×××	××	×	Sp	±	±	0	0	0	0	0	0
„ 1 07 . .	×××××	×××	××	×	Sp	±	0	0	0	0	0	0
„ 3 09 . .	vst	vst	×××××	××××	Sp	±	0	±	±	0	0	0
13. XI. „ 9 30 . .	vst	vst	vst	vst –	Sp	±	Sp	Sp	Sp	0	Sp	0
p_H gemessen	—	—	3,00	—	3,05	—	3,05	—	3,03	—	—	—

*) Kontrolle.

Tabelle XXVI.

Versuch 125. „Soll p_H" 5,0 (Acetatpuffer). NaCl variiert + $AlCl_3$ konstant m/32768. Reihe angesetzt um 12 Uhr 15 Min.

Endkonzentration an NaCl	m/128	m/256	m/512	m/1024	m/2048	m/4096	m/8192	m/16384	0	0 *)	m/256 *)	m/512 *)
Endkonzentration an $AlCl_3$	m/32768	m/32768	m/32768	m/32768	m/32768	m/32768	m/32768	m/32768	m/32768	0	0	0
Flockungsgrad												
16. XI. um 12h57' .	×+	×	Sp	±	Sp	±	±	0	0			
„ 1 45 .	××××	×××	××	×	×	×–	Sp +	Sp	Sp	0	0	0
„ 3 00 .	vst	vst – –	××××××	×××××	××××	×××	××+	××+	×+	0	0	0
p_H gemessen	—	—	4,70	—	4,66	—	4,64	—	2,64	—	—	—

*) Kontrolle.

V. Versuche mit Salzgemischen an Lecithin bei „Soll p_H" 2,0 und 5,0.

Zunächst wurde $CaCl_2$ in an sich noch nicht flockender Konzentration (m/256) zu abgestufter NaCl-Reihe zugegeben und gleichzeitig eine NaCl-Reihe ohne $CaCl_2$ angesetzt. Der Versuch verlief folgendermaßen:

Tabelle XXVII.

Versuch 104. 3. Nov. 1925. „Soll p_H" 2,0 (Tartratpuffer). Reihen angesetzt um 2 Uhr 15 Minuten.

A. NaCl variiert ohne $CaCl_2$.

Endkonzentration an NaCl	m/16	m/32	m/64	m/128
Flockungsgrad 4. XI. . . .	0	0	0	0
5. XI. 9h30'.	×××	×××	0	0

B. NaCl variiert mit CaCl (m/256) konstant.

Endkonzentration an NaCl	m/16	m/32	m/64	m/128
Endkonzentration an $CaCl_2$	m/256	m/256	m/256	m/256
Flockungsgrad 4. XI. . . .	0	0	0	0
5. XI. 9h30'.	0	0	0	0
6 40.	Sp	0	0	0
6. XI. 9 30.	×××	×××	0	0

Die Flockung war also durch die Anwesenheit des $CaCl_2$ gehemmt. Viel deutlicher trat dieser Antagonismus aber hervor, wenn $CaCl_2$ in zwar nicht optimaler, aber doch schon flockender Konzentration zugesetzt wurde. Es zeigte sich dann eine abgestufte Hemmung der durch $CaCl_2$ an sich hervorgerufenen Flockung.

Tabelle XXVIII.

Versuch 106. NaCl variiert + $CaCl_2$ konstant m/128. „Soll p_H" 2,0 (Tartratpuffer). Reihe angesetzt um 11 Uhr 5 Minuten.

Endkonzentr. an NaCl	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	0
Endkonzentr. an $CaCl_2$	m/128	m/128	m/128	m/128	m/128	m/128	m/128
Flockungsgrad							
4. XI. 2h30'	0	0	0	0	Sp	Sp	×
2 40	0	0	0	0	×	×	××
3 10	0	0	0	0	××	××	××
5 10	0	0	0	××	××××	××××	××××
5. XI. 9 30	vst –	vst –	vst –	vst –	vst	vst	vst
p_H gem. (Chinhydr.)	—	—	—	2,24	2,22	—	—

Hier ergibt sich also das bisher ungewohnte Bild, daß die Flockung mit abnehmender Konzentration des Salzgemisches zunimmt.

Ein mit KCl und $CaCl_2$ vorgenommener Versuch zeigt das gleiche Verhalten wie bei NaCl + $CaCl_2$.

Bei Vermehrung des Versuchs-p_H auf 5,0 mußte wieder die Zusatzkonzentration von $CaCl_2$ den neuen Verhältnissen angepaßt werden, entsprechend der dann etwas geringeren Wirksamkeit des $CaCl_2$ (siehe Tabelle XX). Es wurde m/64 gewählt.

Tabelle XXIX.

Versuch 107a. „Soll p_H" 5,0. NaCl variiert + $CaCl_2$ (m/64) konstant. Reihe angesetzt 4 Uhr 50 Minuten.

Endkonzentration an NaCl	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	0
Endkonzentration an $CaCl_2$	m/64	m/64	m/64	m/64	m/64	m/64
Flockungsgrad						
4. XI. 5h05'	0	0	0	0	0	Sp
5 30	0	0	0	0	±	×
5. XI. 9 30	0	0	0	××	×××	×××
p_H gem. (Chinhydron) .	—	—	—	4,74	4,76	—

Prinzipiell gleich verlaufen die Versuche mit NaCl + $AlCl_3$ bei p_H 7,0 und p_H 5,0, nur noch schneller, entsprechend der höheren Wirksamkeit des $AlCl_3$.

Tabelle XXX.

Versuch 108. „Soll p_H" 2,0 (Tartratpuffer). NaCl variiert + $AlCl_3$ konstant m/4096. Reihe angesetzt um 1 Uhr 10 Minuten.

Endkonzentration an NaCl	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	0
Endkonzentration an $AlCl_3$	m/4096	m/4096	m/4096	m/4096	m/4096	m/4096
Flockungsgrad						
4. XI. 2h07'	0	0	0	0	Sp	Sp
2 13	0	0	0	Sp	Sp	Sp^+
2 38	0	0	0	Sp	Sp^+	×××
3 00	0	0	0	×	××	×××××
3 15	0	0	0	×	$××^+$	vst –
5 00	0	0	Sp	×××	×××××	vst
5. XI. 9 30	vst – –	vst –	vst –	vst –	vst	vst
p_H gem. (Chinhydron) .	—	—	—	2,21	2,24	—

Analog ist das Verhalten bei p_H 5,0.

Um den Antagonismus auch noch auf andere Weise zu prüfen, wurden vier Versuche mit abgestuftem $CaCl_2$-Gehalt von m/16 bis m/128 angesetzt, während die NaCl-Konzentration innerhalb eines Versuchs konstant gehalten und von Versuch zu Versuch von m/4 bis m/32 abgestuft war. Dabei zeigte sich stärkste Hemmung bei m/4, die kontinuierlich abnahm bei m/32.

Tabelle XXXI.

Versuch 110. „Soll p_H" 5,0. (Acetatpuffer).

A. NaCl konstant m/4 + $CaCl_2$ variiert (m/16 bis m/128) } Reihe angesetzt
B. NaCl konstant m/8 + $CaCl_2$ variiert (m/16 bis m/128) } um 12 Uhr 50 Min.
C. NaCl konstant m/16 + $CaCl_2$ variiert (m/16 bis m/128) } Reihe angesetzt
D. NaCl konstant m/32 + $ClaCl_2$ variiert (m/16 bis m/128) } um 12 Uhr 52 Min.

Endkonzentration an $CaCl_2$	m/16	m/32	m/64	m/128	0	
Flockungsgrad 5. XI. um 1h05'	0	0	0	0	0	A
„ 1 19	0	0	0	0	0	
„ 2 14	×	0	0	0	0	
„ 5 30	vst	×××	0	0	0	
„ 1 05	Sp	0	0	0	0	B
„ 1 19	Sp⁺	±	0	0	0	
„ 2 14	×××	××	0	0	0	
„ 5 30	vst –	vst –	0	0	0	
„ 1 07	Sp	Sp	0	0	0	C
„ 1 20	×	××	0	0	0	
„ 2 16	××××⁻	××××	0	0	0	
„ 5 32	vst –	vst –	0	0	0	
„ 1 07	Sp	×	0	0	0	D
„ 1 20	××	×××	0	0	0	
„ 2 16	×××××⁻	×××××	±	0	0	
„ 5 32	vst –	vst –	××	0	0	
p_H gemessen (Chinhydron) A	—	4,74	4,77	—	—	
B	—	4,78	4,83	—	—	
C	—	4,83	4,85	—	—	
D	—	4,87	4,87	—	—	

Schließlich seien noch zwei Versuche angeführt, die beweisen, daß derselbe Antagonsimus auch für $CaCl_2 + AlCl_3$ sowohl bei p_H 2,0 wie bei p_H 5,0 besteht. (Tabelle XXXII.)

So zeigen die Versuche an Lecithin mit Salzgemischen durchgehend einen Antagonismus.

VI. Versuche mit Cholesterin-Lecithingemischen.

Um die Flockung in einem Cholesterin-Lecithingemisch, in dem die Cholesterinendkonzentration wie immer 0,01 Proz. betrug, beobachten zu können, wurde mit der Lecithinendkonzentration auf den zwanzigsten Teil der sonst benutzten heruntergegangen. Diese Lecithinverdünnung allein ohne Cholesterin hat ein fast wasserklares Aussehen.

Zunächst wurde nun ein Vorversuch mit $CaCl_2$ und dem angegebenen Cholesterin-Lecithingemisch gemacht bei p_H 2,0, bei dem Cholesterin allein sonst schnelle Flockung zeigt, Lecithin dagegen nicht. (Tabelle XXXIII.)

Tabelle XXXII.

Versuch 115. $CaCl_2$ variiert + $AlCl_3$ konstant m/2048. „Soll p_H" 2,0 (Tartratpuffer). Reihe angesetzt um 2 Uhr 29 Minuten.

Endkonzentration an $AlCl_3$	m/2048	m/2048	m/2048	m/2048	m/2048	m/2048	m/2048	m/2048	m/2048	m/2048	m/2048
Endkonzentration an $CaCl_2$	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	m/256	m/512	m/1024	0
Flockungsgrad 6. XI. um 2h30′	0	0	0	0	0	0	0	±	Sp	Sp	Sp
„ 3 07	0	0	0	0	0	±	×××	××××	××××	××××	××××
„ 3 55	0	0	0	0	0	×	vst – –	vst	vst	vst	vst
p_H gemessen	—	1,89	2,03	2,18	—	2,42	—	2,55	—	2,54	—

Versuch 116. Genau wie Versuch 115, nur mit Acetatpuffer p_H 5,0. Reihe angesetzt um 3 Uhr 15 Minuten.

Flockungsgrad 6. XI. um 3h16′	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Sp
„ 3 55	0	0	0	0	0	0	0	Sp	Sp	×	××
p_H gemessen	4,16	—	4,62	—	4,80	—	—	5,12	—	—	—

Tabelle XXXIII.

Versuch 126. „Soll p_H" 2,0 (Tartratpuffer). Salz: „$CaCl_2$". Cholesterinendkonzentration 0,01 Proz. Lecithinendkonzentration 0,02 Proz. Reihe angesetzt 4 Uhr 35 Minuten.

Endkonzentration an $CaCl_2$	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	m/256	m/512	m/1024	m/2048	m/4096	0 *)	0 *)
Cholesterinsuspension	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Lecithinsuspension 4mal verd.	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0
Flockungsgrad														
17. XI. um 5h00′	Sp+	Sp	Sp	Sp	Sp	Sp	±	0	0	0	0	0	0	××××
„ 5 30	×	×	×	×	×	×	×–	±	0	0	0	0	0	vst – –
18. XI. „ 1 00	vst	vst	vst	vst	vst	vst	vst	Sp+	Sp	Sp	Sp	Sp	±	vst

*) Kontrollen.

Während also die Cholesterinkontrolle *ohne* Lecithin nach 25 Minuten starke Flockung zeigt, nach 55 Minuten nahezu ganz geflockt hat, ist die andere Cholesterinkontrolle *mit* Lecithin nach 20 Stunden ± geflockt. Die $CaCl_2$-Flockung reicht herunter bis m/128, also bis zu der bei p_H 2,0 früher festgestellten Lecithingrenzkonzentration.

Das Lecithin übt also einen äußerst stark hemmenden Einfluß auf die Cholesterinflockung aus, ja prägt ihm überhaupt seinen Flockungscharakter auf. Dabei ist zu beachten, daß die Anwesenheit des Lecithins für das bloße Auge gegenüber der viel stärkeren Cholesterintrübung (Vergleich der angegebenen Verdünnungen ohne Salzzusatz) kaum bemerkbar ist.

Dieses Verhalten zeigt sich nun auch in den folgenden systematisch angestellten Versuchen.

Bevor wir zu diesen übergehen, ist aber noch ein Versuch zu erwähnen, der Aufschluß über das Verhalten der Schutzwirkung des Lecithins auf das Cholesterin bei variierter Lecithinkonzentration geben soll. Der Versuch wurde wieder bei p_H 2,0 gemacht, bei dem Cholesterin allein stark flockt.

Tabelle XXXIV.

Versuch 127. Cholesterin-Lecithingemisch. „Soll p_H" 2,0 (Tartratpuffer). Cholesterinkonzentration konstant 0,01 Proz., Lecithinkonzentration variiert.

Reihe angesetzt um 5 Uhr.

Endkonz. an Cholesterin, Proz.	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01 *)
Endkonzentr. an Lecithin, Proz.	0,015	0,01	0,005	0,0025	0
Flockungsgrad					
17. XI. um 5h25' . .	0	0	0	0	××××
18. XI. „ 1 00 . .	±	Sp	×	×+	vst
p_H gemessen	2,24	—	—	2,23	—

*) Kontrolle.

Mit abnehmender Lecithinkonzentration nimmt auch die Schutzwirkung ab, bleibt jedoch bei 0,0025 Proz. Lecithin immer noch beträchtlich gegenüber der Kontrolle. Diese Lecithinkonzentration (0,0025 Proz.) erscheint ohne Vorhandensein von Cholesterin wie Wasser.

Für die folgenden Versuche wurde nun nicht mehr ein p_H zugrunde gelegt, bei dem Cholesterin noch flockt, sondern p_H 3,0, bei dem es stabil bleibt.

Tabelle XXXV.

Versuch 128. „Soll p_H" 3,0 (Lactatpuffer). „NaCl". Cholesterin-Lecithingemisch. Cholesterinendkonzentration 0,01 Proz. Lecithinendkonzentration 0,02 Proz. Reihe angesetzt um 2 Uhr 40 Minuten.

A. Mit Lecithin. B. Kontrolle ohne Lecithin.

Endkonz. an NaCl	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	0	
Flockungsgrad									
19. XI. 4h06'	××	×	Sp	0	0	0	0	0	A
5 05	×××	××	Sp	±	0	0	0	0	A
20. XI. 9 30	vst	vst	Sp	±	0	0	0	0	A
4h02'	×××××	××××	×××	××	×	Sp	±	±	B
5 05	×××××	×××××	××××	×××	××	×+	Sp	Sp	B
20. XI. 9 30	vst	vst	vst	vst –	vst – –	××××	Sp	Sp	B
p_H gemess. A	—	2,86	2,93	—	—	—	—	—	
p_H gemess. B	—	2,84	2,96	—	—	—	—	—	

In diesem Versuch zeigt sich wieder die deutliche Hemmung. Kontrolle B ist zu gleicher Zeit angesetzt wie Reihe A und flockt in gleichen Ablesungszeiten stärker und weiter nach rechts reichend. Im ganzen war diese Cholesterinsuspension etwas empfindlicher als frühere, denn die salzfreie Cholesterinkontrolle bleibt nicht ganz stabil.

Ganz analog, nur mit geringen Unterschieden, verlaufen die Versuche mit den übrigen Alkalien.

Tabelle XXXVI.

Zum Vergleich mit der Kontrolle siehe Flockungsgrad vorige Tabelle Nr. XXXV bei B. Reihe mit KCl und NH_4Cl angesetzt um 2 Uhr 47 Minuten. Reihe mit LiCl angesetzt um 4 Uhr 35 Minuten.

	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	
um 4h15' . . .	×+	×	±	0	0	KCl
„ 5 10 . . .	×+	×	Sp	0	0	KCl
20. XI. „ 9 30 . . .	vst	vst	Sp	Sp	0	KCl
p_H gemessen	—	3,03	3,00	—	—	
um 5h00' . . .	××	×	Sp	0	0	NH_4Cl
20. XI. „ 9 30 . . .	vst	vst	×+	Sp	0	NH_4Cl
p_H gemessen	—	2,96	2,98	—	—	
20. XI. um 9h30' . . .	vst	vst	××+	Sp	Sp	LiCl
p_H gemessen	—	2,94	2,98	—	—	LiCl

Am deutlichsten wird das Verhalten des Cholesterin-Lecithingemisches klar bei den dreiwertigen Salzen. (Tabelle XXXVIII.)

Wie schon aus den Versuchen mit den Alkalien und Erdalkalien zu sehen war, flockte das Gemisch immer in der bei Lecithin allein gefundenen Zone, so daß die Flockungsgrenze gegenüber dem reinen Cholesterinversuch nach links verschoben war. Hier findet sich nun dieselbe Flockungszone wie beim Lecithinversuch (siehe Tabelle XIII), nur um ein Glied nach links verschoben, wegen des um 1,0 saureren p_H,

Tabelle XXXVII.

Versuch 133. „Soll p_H" 3,0. Lactatpuffer. Salz: $CaCl_2$. Cholesterinkonzentration 0,01 Proz. Lecithinkonzentration 0,02 Proz. Reihen angesetzt um 2 Uhr 32 Minuten. A. Cholesterin + Lecithin. B. Cholesterin *ohne* Lecithin.

	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	m/256	m/512	m/1024	m/2048	m/4096	0	
Flockungsgrad												
20. XI. um 3 06′ . .	××	××	××	××	×⁺	0	0	0	0	0	0	A
„ 4 25 . .	×××	×××	×××	×××	××	Sp	±	0	0	0	0	A
21. XI. „ 9 30 . .	vst	vst	vst	vst	vst –	Sp	0	0	0	0	0	A
„ 4 30 . .	vst	vst	vst	vst	vst	vst	vst	vst	vst	vst	0	B
21. XI. „ 9 30 . .	vst	vst	vst	vst	vst	vst	vst	vst	vst	vst	vst – – –	B
p_H gemessen A	—	—	—	—	3,19	3,21	—	—	—	—	—	
p_H gemessen B	—	—	—	—	3,09	3,15	—	—	—	—	—	

Tabelle XXXVIII.

Versuch 136. „Soll p_H" 3,0 (Lactatpuffer). Salz: $AlCl_3$. Cholesterinkonzentration 0,01 Proz. Lecithinkonzentration 0,02 Proz. Reihen angesetzt um 11 Uhr 35 Minuten. A. Cholesterin mit Lecithin. B. Cholesterin *ohne* Lecithin.

Endkonz an $AlCl_3$	m/128	m/256	m/512	m/1024	m/2048	m/4096	m/8192	m/11 683	m/32 768	0	
Flockungsgrad											
21. XI. um 1h 11′	0	0	×	×	Sp	0	0	0	0	0	A
23. XI. „ 9 30	0	0	vst	vst	vst –	0	0	0	0	0	A
„ 1 10	×××××	××××	×××	×××	×××	×××	×××	×××	×××	××	B
„ 3 35	vst –	vst –	vst – – –	vst – – –	×××××××	×××××	×××××	×××××	×××××	×××××	B
p_H gemessen A	—	2,86	2,98	—	—	—	—	—	—	—	
p_H gemessen B	—	—	2,98	—	—	—	—	—	—	—	

während rechts und links davon die Flockung völlig, auch nach 1 ½ Tagen, ausbleibt. Die reine Cholesterinkontrolle flockt binnen 4 Stunden fast völlig. *Der Flockungscharakter des Lecithins prägt sich also dem Lecithin-Cholesteringemisch auf.* Es findet aber insofern eine gegenseitige Hemmung statt, als die Flockung beim Lecithin-Cholesteringemisch in der flockenden Zone langsamer verläuft als beim reinen Lecithinversuch.

Zu erwähnen ist, daß sich auch hier wieder, wie beim Lecithin allein, die Dispersitätsveränderung sofort nach dem Zusammengießen der Röhrchen kenntlich macht. Beim Cholesterin-Lecithingemisch ist die Zone von m/572 bis m/2048 stärker getrübt als die der benachbarten Röhrchen, während die Kontrolle ohne Lecithin gleichmäßig ohne Zonenbildung ist.

Der Versuch mit Cerochlorid verläuft ganz analog.

Diese Versuche wurden nun für p_H 5 und ohne Pufferzusatz ausgeführt, ohne daß an den Gesamtverhalten sich etwas ändert. Auch die obere Zone von m/286 bis m/8, die in Tabelle XXXVIII nicht enthalten ist, ist vorhanden.

Zusammengefaßt ergibt sich also:

1. Beimengung von Lecithinsuspension zu Cholesterinsuspension, in einer Menge, die destilliertem Wasser ohne Cholesterin kaum einen Hauch von Trübung verleiht, hemmt die Cholesterinflockung sehr stark.

2. Geht man mit der Lecithinverdünnung in abgestufter Reihe so weit herunter, daß sich die Lösung für das bloße Auge überhaupt nicht mehr von Wasser unterscheidet (0,0025 Proz.), so nimmt die Hemmung allmählich ab, bleibt aber immer noch beträchtlich (Flockung nach 20 Stunden $\times^+$, Kontrolle: vst).

3. Das Lecithin prägt dem Cholesterin *seinen* Flockungscharakter auf — die Flockungszonen bleiben dieselben wie beim Lecithin allein —, wird aber seinerseits wiederum von Cholesterin gehemmt, was sich in geringerer Flockungsgeschwindigkeit gegenüber dem reinen Lecithinversuch zeigt. Es liegt also eine Schutzwirkung des Lecithins auf das Cholesterin vor.

VII. Versuche über den Einfluß kapillaraktiver Stoffe auf die Flockung von Cholesterin und Lecithin.

Es wurde zunächst sowohl für Cholesterin wie für Lecithin eine $CaCl_2$-Reihe bei p_H 5,0 angesetzt, bei der in jedem Röhrchen 3 ccm Wasser durch 3 ccm einer gesättigten Isobutylurethanlösung ersetzt waren. Beim Lecithin wie beim Cholesterin wurde keinerlei Einfluß des Isobutylurethans beobachtet. Die Flockung verlief, sowohl was die Lage der Grenzkonzentration als auch den zeitlichen Verlauf anbelangt, völlig normal.

Dann wurden dieselben Versuche angesetzt, nur wurde das Verdünnungswasser durch mit Thymol gesättigtes Wasser ersetzt. Für Cholesterin zeigte sich wiederum völlige Indifferenz. Dagegen begegnet man beim Lecithin einem besonderen Verhalten.

Tabelle XXXIX.

Versuch 164. Lecithinsuspension. Salz: $CaCl_2$. „Soll p_H" 5,0 (Acetatpuffer). Mit Thymol gesättigtes Verdünnungswasser. Reihe angesetzt um 11 Uhr.

Endkonz. an $CaCl_2$	m/2	m/4	m/8	m/16	m/32	m/64	m/128	m/256 ... m/2048
Flockungsgrad								
13. XII. 11h00'	0	×	×	×	×	×	0	0
11 05	0	××××	××××	××××	××××	××××	0	0
11 15	0	vst –	vst –	vst –	vst –	vst –	0	0
11 40	×	vst	vst	vst	vst	vst	0	0
1 00	×××	vst	vst	vst	vst	vst	××	0

m/256 bis m/2048 sind sehr stark getrübt, bleiben aber auch am nächsten Tage noch stabil.

Vergleicht man den entsprechenden Lecithinversuch ohne Thymol (siehe Tabelle XV) mit dem Thymolversuch, so ist in letzterem außer einer geringen Verbreiterung der Flockung um ein Glied nach rechts und links vor allem *die sehr starke Beschleunigung der Flockung* auffallend. Alle Röhrchen beginnen fast momentan mit der Flockung, die im Versuch ohne Thymol teilweise erst am nächsten Tage geflockt sind.

VIII. Versuche mit den Systemen: Lecithin—Serum, Cholesterin—Serum, und Cholesterin—Lecithin—Serum.

Zum Schluß wurden Versuche angestellt über den Einfluß von Serumbeimengung zu Lecithin, Cholesterin und Lecithin-Cholesterinsuspensionen.

Es war unmöglich, auf diese Versuche die bis hierher befolgte systematische Weise anzuwenden wegen der Komplikationen, die sofort erscheinen, wenn eine so komplexe Komponente wie Serumeiweiß hinzutritt. Es werden also im folgenden die Versuche nacheinander so beschrieben, wie sie sich organisch auseinander entwickelten.

Zunächst wurde von einem menschlichen elektrodialysierten Serum (Leitfähigkeit $1{,}8 \cdot 10^{-5}$; p_H 5,05) eine 20fache Verdünnung mit Lecithin (4 Proz.) hergestellt und je 1 ccm dieses Gemisches zu einer Reihe mit abgestuftem Puffergemisch zugesetzt. Dabei trat eine *momentane* massige Flockung bei p_H 4,0 auf, also eine Verschiebung der Lecithinflockung ins Alkalische, wie sie auch *Michaelis*[1]) beschreibt. Die Röhrchen mit p_H 3,0 und p_H 5,0 blieben stabil.

Derselbe Versuch wurde nun mit demselben Eiweiß und auch sonst ganz analog nur mit *Cholesterin* statt Lecithin angestellt. *Die*

[1]) Michaelis Praktikum d. phys. Chem. 71, 1912.

Anwesenheit des Eiweißes änderte nichts an dem gewohnten Verhalten des Cholesterins.

Bei p_H 2,0 nach 15 Minuten vollständige Flockung.
„ p_H 3,0 vollkommene Stabilität.
„ p_H 4,0 „ „
„ p_H 5,0 „ „

Bei Wiederholung dieses Versuches mit einem anderen elektrodialysierten Serum [p_H 5,8[1])] ergab sich plötzlich ein ganz anderes Verhalten. Schon bei der Herstellung der 20maligen Verdünnung mit Lecithin *erfolgte momentane Flockung*; ebenso wurde die Cholesterinsuspension innerhalb weniger Minuten vollständig geflockt, und zwar *bei völliger Abwesenheit von Salzen*. Die Lecithinflockung war durch Zusatz von Acetatpuffer (p_H 5,0) nicht reversibel. Durch Phosphatpuffer (p_H 7,0) aber wurde das Gemisch so weit stabilisiert, daß die Flockung erst sehr langsam eintrat (erzieltes p_H 6,69). Der isoelektrische Punkt des Gemisches liegt also weiter im Alkalischen. Am Neutralpunkt etwa wird es stabil. Es wurde nun folgender Versuch mit dem zuletzt besprochenen Serum gemacht:

Tabelle XL.

22. Dezember 1925.

Reihe angesetzt um 12 Uhr 30 Minuten.

	1	2
Serum	0,3	0,3
Phosphat-Puffergemisch, p_H 7,1, m/100 Na	0,3	0,3
Cholesterinsuspension	1,0	1,0
Lecithinsuspension	0,04	0,0

d. h. also einmal *mit* Lecithin, einmal *ohne* Lecithin.

Flockungsgrad 22. XII. 8 30′	0	Sp
4 00	0	×
5 30	0	×+
23. XII. 9 30	±	vst−−
p_H gemessen	6,62	6,69

Die Pufferung war also etwas nach der sauren Seite durchbrochen, so daß die Tendenz zur Flockung bestehen blieb. *Röhrchen 1 mit Lecithin zeigt wieder eine erhebliche Schutzwirkung der Flockung.*

Als nun bei der sonst gleichen Versuchsanordnung wie eben der Phosphatpuffer fortgelassen wurde, die Reaktion also etwas sauer war, trat, wie zu erwarten, in beiden Röhrchen Flockung ein. Diese Flockung war aber 4 Stunden nach dem Ansetzen merkwürdigerweise im Röhrchen *mit* Lecithin durch 2 Tropfen 4 n NaOH momentan reversibel, im Röhrchen *ohne* Lecithin dagegen *nicht*. p_H war sicher über 8,0 in beiden Röhrchen, wie durch Phenolphthalein festgestellt wurde.

Diese Versuche mit Serum sind weiter ausbaufähig. Vor allem müssen sie mit möglichst definierten Eiweißkörpern, etwa kristallisiertem Eieralbumin angestellt werden. Wir haben uns aber zunächst auf diese

[1]) Leitfähigkeit $2{,}7 \cdot 10^{-5}$.

mitgeteilten Versuche beschränkt, aus denen schon hervorgeht, daß sich Regeln wie Sensibilisierung des Cholesterins durch Serum so allgemein nicht aufstellen lassen, wie es zuweilen geschieht.

Schließlich haben wir durch Zufall die Erfahrung gemacht, daß nicht einmal alle Cholesterinpräparate sich einheitlich erweisen. Denn ein Probeversuch mit Cholesterin (*Merck*), einem äußerlich vollkommen dem *Kahlbaum*schen gleichenden Präparat, das sich aber im Gegensatz zu diesem in Aceton nur mit einer leichten Trübung löste, zeigte eine erheblich größere Labilität [Flockung bei p_H 6,0 (m/100 $Na^{\cdot}$)]. Der Ursache dieser Verschiedenheit sind wir nicht nachgegangen. Ein uns von der Firma C. H. Boehringer Sohn in Niederingelheim liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellte Speziallecithinpräparat, das sich bei serologischen Versuchen von *H. Sachs* und *A. Klopstock*[1]) gegenüber dem *Merck*schen als different erwiesen hatte, ergab in einigen Probeversuchen außer etwas schnellerer Flockung keine Unterschiede.

Das verschiedene Verhalten der beiden Cholesterinpräparate kann den Wert des Mitgeteilten nicht beeinträchtigen. Denn die Versuche wurden alle an dem gleichen Präparat angestellt und auf Grund der an diesem gefundenen Eigenschaften kombiniert. Außerdem wird es sich bei der Differenz der Präparate weniger um Wesensverschiedenheiten als um quantitative Unterschiede, also um Unterschiede der absoluten Werte handeln.

Mit einer relativ groben Methodik — denn als solche muß die Flockungsbeobachtung gelten — wurden Cholesterin und Lecithin jedes für sich und kombiniert untersucht, mit Beachtung des Salzgehalts und der Wasserstoffionenkonzentration. Dabei zeigten sich hemmende und fördernde Einflüsse, die teils von seiten des Cholesterins und Lecithins, teils von dem Milieu ausgehen.

Man gewinnt aus den Versuchen die Vorstellung, daß der Organismus, der als feinerer Indikator schon auf weit geringere Veränderungen reagiert als es unsere Methodik vermag, neben dem artspezifischen Aufbau des Eiweißes in den Faktoren des Lecithins und Cholesterins, den Schwankungen der H-Ionenkonzentration und der Relation der einzelnen Elektrolyte zueinander, ein fein äquilibriertes System besitzt, das in sich schon reiche Möglichkeit birgt, auf Störungen durch Zustandsänderung desselben zu antworten.

Zusammenfassung.

Die Flockung durch H-Ionen für das von uns verwandte Cholesterin ergibt als Grenze zwischen flockender und nichtflockender Suspension bei einem Puffergehalt von $^1/_{100}$ Molarität unabhängig von der Art des

[1]) Diese Zeitschr. **159**, 491, 1925.

gewählten Puffers p_H 2,4 bis p_H 3,2, während sie für die HCl-Flockung ohne Puffer wegen der fehlenden additiven Wirkung der Na-Ionen um p_H 2,4 liegt. Es zeigte sich eine geringe Schwankungsbreite zwischen verschiedenen sonst praktisch gleichartig hergestellten Suspensionen.

Flockung durch die Chloride ein-, zwei- und dreiwertiger Salze. Die Versuche wurden 1. bei einem p_H nahe an der flockenden Grenzkonzentration für H-Ionen (p_H 3,0), 2. bei p_H 5,0, 3. ohne Puffer angestellt.

Dabei ergibt sich: Je höher die Wertigkeit der flockenden Kationen ist, eine um so geringere Konzentration genügt zur Flockung.

Bei den dreiwertigen Kationen treten die sogenannten „unregelmäßigen Reihen" auf, die im Versuch mit Puffer und ohne Puffer Verschiedenheiten zeigen. Die H-Ionen und die jeweilig angewandten Kationen addieren sich in ihrer Wirkung.

Die Flockung durch H-Ionen für das von uns angewandte Lecithin ergibt als Grenze zwischen flockender und nichtflockender Suspension, unabhängig von der Wahl des Puffers, auch bei einer HCl-Flockung ein p_H von 1,73 bis 1,75.

Flockung durch die Chloride ein-, zwei- und dreiwertiger Salze bei p_H 2,0 bis 2,2, bei p_H 5,0 und ohne Puffer ergibt: Die Alkalien flocken nur bei p_H 2,1 und relativ hohen Konzentrationen (Optimum m/2 bis m/4). Bedeutend stärker wirken die zweiwertigen Salze, was sich sowohl in der geringen optimalen Konzentration wie in der kurzen Zeit bis zum Flockungsbeginn ausspricht, $CaCl_2$ ist etwas wirksamer als $BaCl_2$. Bei den dreiwertigen Salzen treten zwei Flockungszonen auf — eine noch weit tiefer als bei den zweiwertigen gelegene und eine im Gebiet der Flockung der Alkalien. p_H-Unterschiede sind von geringer Bedeutung.

Flockung durch Salzgemische bei Cholesterin.

Die Kombinationen $Na^{\cdot}$ mit $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Na^{\cdot}$ mit $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ ergeben bei p_H 3,0 und p_H 5,0 einen Synergismus, der sich in der Verschiebung der Flockungsgrenze nach der Seite der geringeren Konzentrationen und in so starker Beschleunigung der Flockung zeigt, daß man fast von einer Potenzierung der Wirkung des Salzgemisches sprechen kann.

Flockung durch Salzgemische bei Lecithin.

Dieselben Versuche bei Lecithin ergeben einen Antagonismus, der auf verschiedene Weise nachgeprüft wurde.

Versuche mit Cholesterin-Lecithingemischen.

Das Lecithin übt einen sehr stark hemmenden Einfluß auf die Cholesterinflockung aus. Abnehmende Lecithinkonzentration bewirkt

abnehmende Hemmung. Dabei wirken noch Lecithinverdünnungen hemmend, die allein ohne Cholesterin und Salze wie reines Wasser erscheinen.

Das Lecithin prägt der Cholesterin-Lecithinflockung *seinen* Flockungscharakter auf, der aber wiederum durch das Cholesterin insofern verändert wird, als die Flockung langsamer verläuft als beim reinen Lecithinversuch. Es liegt also eine gegenseitige Beeinflussung vor. p_H-Unterschiede sind von unwesentlicher Bedeutung.

Der Einfluß kapillaraktiver Stoffe

a) auf die Flockung von Cholesterin: Isobutylurethan und Thymol üben keine Wirkung aus.

b) auf die Flockung von Lecithin: Isobutylurethan ist ohne Einfluß. Dagegen bewirkt Thymol eine sehr starke Flockungsbeschleunigung und eine geringe Verbreiterung der Flockungszone.

Cholesterin, Lecithin und Serum.

Die Versuche zeigen bei verschiedenen menschlichen Sera ein verschiedenes Verhalten. Während Beimengung von elektrodialysiertem Serum in einem Falle Cholesterin binnen kurzem zu vollständiger Ausflockung brachte, war es in einem anderen Falle wirkungslos. Es konnte durch Alkalisierung des Systems (bei einem flockenden Serum) eine größere Stabilität erzeugt werden. Beimengung von Lecithin wirkte auch hier hemmend auf die Flockung.

Ein Cholesterinpräparat anderer Herkunft (*Merck*) als das der Arbeit zugrunde liegende (*Kahlbaum*), das sich im Gegensatz zu letzterem in Aceton nicht klar löste, zeigte weit größere Labilität.

Die Untersuchung ist mit Unterstützung der Japan-Stiftung (Hoshi-Stiftung) der Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft ausgeführt worden. Fräulein *Wunder* hat uns bei der Arbeit wertvolle Hilfe geleistet.

Eine neue gebrauchsfertige Apparatur zur elektrometrischen Messung der Wasserstoffionenkonzentration.

Von

H. Lüers.

(Laboratorium für angewandte Chemie der Technischen Hochschule in München).

(Eingegangen am 18. Februar 1926.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Seit den klassischen Arbeiten von *S. P. L. Sörensen* und *L. Michaelis* über die Messung und Bedeutung der ($H^{\cdot}$) ist das Bedürfnis nach einfachen, gebrauchsfertigen Apparaturen für derartige Messungen von Jahr zu Jahr gestiegen, denn es gibt heute wohl kein Laboratorium, welches sich auf biologischem oder biochemischem Gebiet betätigt, das nicht schon in die Lage gekommen wäre, Wasserstoffionenkonzentrationen messen zu müssen. Eine diesbezügliche Apparatur gehört heute ohne Frage zum unentbehrlichen Rüstzeug eines modernen Laboratoriumsbetriebs.

Nachdem wir uns schon frühzeitig mit Studien auf diesem Gebiet befaßten, waren wir vor die Aufgabe gestellt, die Apparatur nach den Angaben von *Sörensen* und *Michaelis* sowie der einschlägigen Literatur aus einzelnen Teilen, die für sich beschafft werden mußten, zusammenzustellen, und dies jedesmal zu wiederholen, wenn man die Arbeitsstätte wechselte.

Der damit verknüpfte Zeitaufwand, ferner zahlreiche Anfragen von Fachkollegen oder Interessenten nach solchen Apparaturen waren die Veranlassung, daß wir einen vollständig gebrauchsfertigen Apparat zu konstruieren versuchten. Nach einer Reihe von Versuchen gemeinsam mit der Firma F. und M. Lautenschläger, München, ist es unserer Ansicht nach gelungen, dieses Ziel in sehr befriedigender Weise zu erreichen. Da das Interesse der Fachkreise an dieser Apparatur ein sehr reges ist, soll im folgenden das Wesentliche darüber mitgeteilt werden, wobei die allgemeinen Kenntnisse über die Theorie der Messung von Gasketten vorausgesetzt werden.

Abb. 1 gibt ein allgemeines Bild über den Apparat. Auf einer gemeinsamen, gut isolierenden und verziehungsfreien Grundplatte sind die einzelnen Teile fest montiert, so daß der Apparat bequem von einem Raum in den anderen transportiert werden kann und stets gebrauchsfertig ist. Nichtsdestoweniger lassen sich aber doch die einzelnen Aggregate, wie Akkumulatoren, Normalelement, Meßinstrument, leicht von der Platte zum Zwecke der Reinigung, Prüfung, Aufladung usw. entfernen. Sämtliche Leitungen sind aus bestisoliertem Draht hergestellt und liegen an der Unterseite der Platte. Auf die

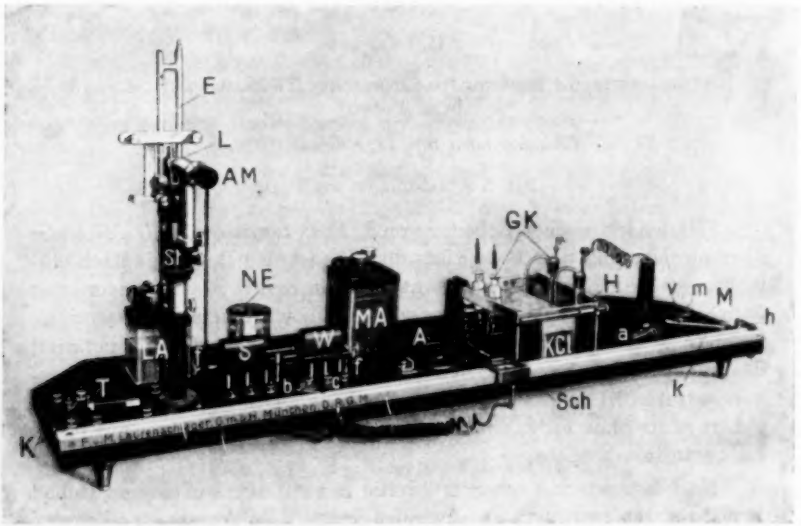


Abb. 1.

Ausführung der Klemmen ist besondere Sorgfalt verwendet worden, um Kontaktfehler möglichst zu vermeiden. Die wesentlichen Teile der Apparatur sind folgende:

In der Mitte befindet sich der Meßakkumulator (*MA*), eine Varta-Accomet-Type, der gegenüber den gewöhnlichen Akkumulatoren den Vorteil hat, daß bei Entladung mit sehr geringen Stromstärken, wie es bei diesen Messungen der Fall ist, die Kapazitätsentnahme sich über 6 Monate ohne neuerliche Aufladung erstrecken kann.

Links neben diesem Meßakkumulator ist ein gewöhnliches transportfähig gefülltes Cadmium-Normalelement von der Spannung 1,0187 Volt untergebracht.

Wie das Schaltungsschema in Abb. 2 zeigt, arbeitet der Akkumulator *MA* über die rechte und linke Klemme der Meßbrücke *M* auf den Meßdraht, wobei die vom positiven Pol ausgehende Stromzuleitung über den Ausschalter *S* führt. Der Stromkreis des Normalelements führt vom negativen Pol aus zum Wechselschalter *W* und dann entweder über das Kontaktblech *b* zum Schleifkontakt *Schl*, oder bei der Schaltung zur direkten Ablesung der Millivolt, an den Kontakthebel *h*. Der positive Pol des Normalelements *NE* ist über den Schalter *S* und den Wechselschalter *W*, mit dem Kurzschlußtaster *T* und dem Kapillarelektrometer *E* verbunden.

Dieses Meßinstrument befindet sich auf einem auf der Grundplatte montierten Stativ *St*, an welchem es durch Klemmen, leicht abnehmbar, gehalten wird. Ein Ablesemikroskop *AM* gestattet eine scharfe, stark vergrößerte Beobachtung des Menikus vor einer Okularskala, die ihren Nullpunkt in der Mitte hat, um den Ausschlag nach oben oder unten schnell übersehen zu können. Das Mikroskop ist nach drei Richtungen im Raume beweglich und feststellbar und gestattet so sehr rasch und leicht das Auffinden und Einstellen des Quecksilbermeniskus. Hinter der Kapillare ist ein elektrisches Lämpchen zur Beleuchtung des Quecksilberfadens an-

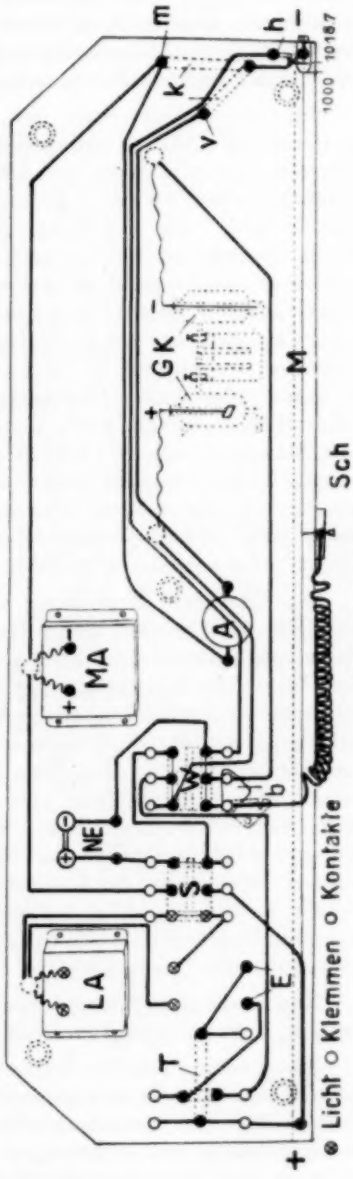


Abb. 2. Schaltungsschema.

gebracht, das vom Lichtakkumulator *LA*, ebenfalls ein Accomettyp, der über den Schalter *S* arbeitet, versorgt wird. Dadurch ist man vom Tageslicht unabhängig und kann den Apparat an jedem beliebigen Orte (trocken und frei von Säuredämpfen) aufstellen.

Auf der rechten Seite der Grundplatte ist die Gasketten-apparatur *GK* (Abb. 1) untergebracht. Sie besteht aus einer oder mehreren Bezugselektroden und den Meßelektroden, die an handlichen Elektrodenhaltern an einem Rahmen, der die Wanne umgibt, untergebracht sind. Die Schaltung der Gaskette entspricht genau derjenigen des Cadmium-Normalelements, so daß also lediglich durch Verschieben des Wechselschalters nach rechts oder links, einmal das Normalelement oder die Gaskette gegen den Akkumulator geschaltet werden kann. An Stelle der oft zu Störungen Anlaß gebenden Quecksilberwippen ist der Apparat mit sechspoligen Schubschaltern ausgerüstet, bei denen jeder einzelne Kontaktstift durch eine Spiralfeder an die Kontaktfläche gedrückt wird. Jeder Schalter ist schnell durch Lösen einer Rändelschraube *f* (Abb. 1) auseinandernehmbar und dadurch jederzeit leicht zu reinigen. Die Anordnung der Schalter ist so getroffen, daß der Schalter *S* beim Ausschalten stets den Wechselschalter *W* zwangsläufig auf seine Anfangsstellung (Normal-Element-Akkumulator) schiebt. Dies vereinfacht die Bedienung des Apparats.

Eine besondere Einrichtung am Apparat gestattet das Ablesen der EMK der Gaskette unmittelbar in Millivolt an der Meßbrücke, wie es bereits von anderer Seite (*Michaelis*, *Emslander* u. a.) geschah. Doch kann diese Einrichtung nach Belieben ausgeschaltet und mit der bislang üblichen Anordnung gemessen werden. Soll in der bisher üblichen Anordnung mit der Meßbrücke = 1000 mm gearbeitet werden, wird zunächst der Hebel *h* (Abb. 3) am rechten Ende der Meßbrücke hochgestellt, also dieser Kontakt aufgehoben. Dann wird der Kontaktwinkel *a* am rechten Ende der Brücke mit der dort seitlich angebrachten Schraube so befestigt, daß er den 1020 mm langen Meßdraht auf 1000 mm verkürzt. Weiter wird der Kontaktstreifen *k* von der Klemme *v* nach *m* gedreht, so daß er parallel der rechten Kante der Grundplatte steht, und schließlich werden durch das dreikantige Winkelblech *b* die beiden Klemmen *c* des Wechselschalters *W* (Abb. 3) miteinander verbunden.

Nun ist die Apparatur zur Messung in üblicher Weise bereit. Man verfährt, kurz geschildert, bei einer Messung folgendermaßen:

Zuerst schiebt man den Schalter *S* (Abb. 1) nach links und schaltet dadurch den Apparat und gleichzeitig die Beleuchtung des Kapillarelektrometers ein. Das Aufleuchten des Lämpchens *L* am *E* bildet also gleichzeitig ein selbsttätiges Signal für die Einschaltung des Apparats. Der Wechselschalter *W* steht auf seiner Anfangsstellung → *r*

(Abb. 3) und schaltet das Normalelement *NE* gegen den Akkumulator *MA* über das Elektrometer und die Meßbrücke.

Durch Verschieben des Schleifkontakts (*Schl*) sucht man unter gleichzeitigem kurzen kräftigen Tasten des Kurzschlußtasters *T* den

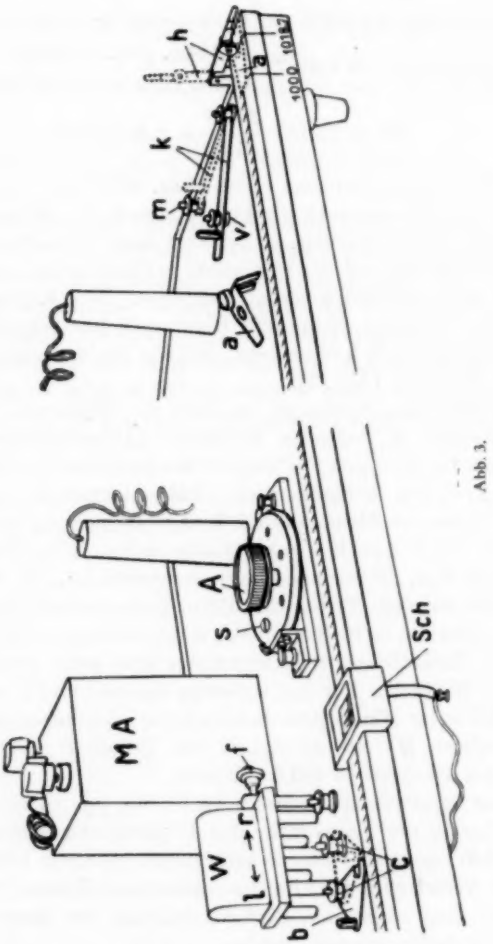


Abb. 3.

Punkt der Stromlosigkeit, der z. B. bei der Brückenablesung 51,20 cm liegen soll. Nun schiebt man den Wechselschalter *W* nach links (l ←), schaltet damit an Stelle des Normalelements die Gaskette ein und sucht wieder den Punkt der Stromlosigkeit, der nach einer Reihe von

im Abstand von 5 Minuten wiederholter Messungen schließlich konstant bei 24,86 cm liegen mag. Nach jeder Messung schiebt man den Schalter *S* kräftig nach rechts, wobei gleichzeitig immer auch der Wechselschalter auf die Stellung Cadmium - Normalelement - Akkumulator geschoben wird, und das Lämpchen erlischt.

Die Berechnung der EMK der Gaskette erfolgt nach der Gleichung:

$$\text{EMK}_{\text{Gaskette}} = 1{,}0187 \cdot \frac{\text{Ables. Akk.-Gaskette}}{\text{Ables. Akk.-Normalelement}}$$

$$\text{also} = 1{,}0187 \cdot \frac{24{,}86}{51{,}20} = 0{,}4855 \text{ Volt.}$$

Diese Berechnung hat man nicht nötig, wenn man sich der vorher erwähnten Vorrichtung zum direkten Ablesen der Millivolt bedient. Will man mit dieser arbeiten, so verfährt man folgendermaßen: Der Kontaktwinkel *a* wird von der Meßbrücke entfernt und der auf 1018 mm eingestellte Kontakthebel *h* heruntergeklappt. Der Kontaktstreifen *k* wird von der Klemme *m* auf die Klemme *v* herübergedreht, ferner wird das Kontaktblech *b* so gedreht, daß die Verbindung zwischen der Klemme *c* gelöst ist (Abb. 3).

Durch diese Umschaltungen hat man die Meßbrücke durch einen auf der Trommel *A* liegenden Meßdraht (Abgleichwiderstand) verlängert, ferner für die rechte Stellung des Wechselschalters (Akkumulator-Normalelement) den Schleifkontakt *Schl* automatisch ausgeschaltet. Beim Einschalten des Stromes durch Linksvorschiebung des Schalters *S* hat man unter Tasten des Kurzschlußtasters nunmehr nur die Trommel *A* so lange zu decken, bis Stromlosigkeit eingetreten ist. Da der Kontakthebel *h* dabei auf dem Teilstrich 1018 m (entsprechend der Spannung des Normalelements = 1018 Millivolt) steht, entspricht bei der zweiten Messung der Gaskette gegen Akkumulator jetzt jeder abgelesene Millimeter einem Millivolt. Für das vorherige Beispiel finden wir also jetzt bei der Ablesung Gaskette—Akkumulator (Linksverschiebung des Wechselschalters *W*) Stromlosigkeit bei Teilstrich 485,5, somit ist die EMK der Gaskette = 485,5 Millivolt.

Aus der Millivoltzahl gelangt man zum p_H, indem man unter Berücksichtigung der Temperatur das Potential der Kalomelelektrode gegen die N-Wasserstoffelektrode subtrahiert und diese Differenz durch den aus der *Nernst*schen Gleichung resultierenden Faktor dividiert. Die Werte sowie eine eventuelle Berücksichtigung des Barometerstandes mögen aus Tabellen ersehen werden.

Mißt man anstatt mit der Wasserstoffelektrode mit der Chinhydronelektrode, so muß man beachten, daß die Chinhydronelektrode als positiver Pol an Stelle der Kalomelelektrode, diese aber als negativer Pol an Stelle der Wasserstoffelektrode geschaltet werden muß, sonst

wird genau wie vorher bei der Messung verfahren. Ergibt sich eine EMK der Kette Chinhydronelektrode—gesättigtes KCl—gesättigte Kalomelelektrode $\varepsilon = 0{,}1154$ Volt, so ist

$$p_H = -\frac{\varepsilon}{q} + \gamma,$$

wobei q der *Nernst*sche Faktor (0,0577 bei 18°) und γ ein von der Temperatur abhängiger Wert (bei 18°) = 7,80), der die Reduktion auf die Normalwasserstoffelektrode enthält, ist. Es ist also in dem Beispiel:

$$p_H = -\frac{0{,}1154}{0{,}0577} + 7{,}8 = -2{,}00 + 7{,}80 = 5{,}80.$$

Die Herstellung des Apparats wurde der Firma F. und M. Lautenschläger, G. m. b. H., München, übertragen. Nach Abstellung der sich am Anfang ergebenden Mängel arbeitet der Apparat seit einer Reihe von Monaten einwandfrei. Der Vorteil einer stets gebrauchsfertigen Apparatur und die schnelle, einfache Handhabung verkürzen die zur Messung notwendige Zeit sehr erheblich, so daß die Bestimmung der ($H^{\cdot}$) nun auch in solchen Fällen erfolgen kann, wo man sich bisher mit anderen, weniger genauen Untersuchungsmethoden begnügte.

Über die chemische Zusammensetzung der lebenden Materie.

Von

W. W. Lepeschkin.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität Prag.)

(Eingegangen am 18. Februar 1926.)

Einleitung.

Die stoffliche Grundlage der lebenden Organismusteile bezeichnete man bis jetzt gewöhnlich als lebende Substanz. In dem vorliegenden Aufsatz habe ich diesen Ausdruck vermieden, weil die lebenden Organismusteile nicht aus einer einheitlichen, sondern aus mehreren oder vielen chemisch individualisierten Substanzen bestehen. Andererseits müssen diese Substanzen sich in einer bestimmten Anordnung befinden, um das Leben zu ermöglichen. Es ist also gerechtfertigt, von der chemischen Zusammensetzung einzelner lebender Zellbestandteile zu sprechen, die ich im allgemeinen als „lebende Materie" bezeichnete[1]). Von den verschiedenen Arten dieser Materie sind das Protoplasma, der Zellkern und die Chromatophoren der Pflanzen diejenigen, deren lebende Natur zurzeit allgemein anerkannt ist, während die anderen Arten dem morphologischen Studium gewöhnlich wenig zugänglich sind und keine allgemeine Anerkennung als lebende Zellgebilde erworben haben[2]). Unsere chemischen Betrachtungen beziehen sich also nur auf das Protoplasma, den Zellkern und die Chromatophoren der Pflanzen.

Wie ich vor kurzem gezeigt habe (l. c.), haben diese Zellbestandteile eine kolloidale Struktur und verhalten sich so gegen mikrochemische

---

[1]) Vgl. meine Kolloidchemie des Protoplasmas 1924, S. 3.

[2]) Manche Forscher, wie z. B. *Haidenhain* (Plasma und Zelle), halten nicht nur die Zellbestandteile, sondern auch die Interzellularsubstanz der Tiere für lebend, weil sie einen Stoffwechsel, Wachstum und sogar Vermehrung zeigen. Es sei jedoch darauf aufmerksam gemacht, daß leblose Substanzen, z. B. die aus Cellulose bestehenden Zellwände der Pflanzen, wenn sie sich unter stetigem Einfluß der lebenden Materie befinden, Lebenserscheinungen zeigen können (vgl Kolloidchemie des Protoplasmas, S. 1 und 2).

Reagenzien, daß man vermuten darf, daß an ihrem Aufbau lockere chemische Verbindungen der Eiweißkörper mit Lipoiden beteiligt sind. Die chemische Zusammensetzung der lebenden Materie interessierte mich aber damals nur insofern, als sie mir die kolloidale Struktur derselben erklärte. In diesem Aufsatz möchte ich aber die genannten Arten der lebenden Materie von einem rein chemischen Standpunkt aus betrachten und versuchen, gemeinsame Eigentümlichkeiten ihrer chemischen Konstitution aufzudecken.

1. Produkte der chemischen Zersetzung des lebenden Protoplasmas.

Bekanntlich sterben alle lebenden Bestandteile der Zelle bei der Einwirkung chemischer Reagenzien ab, die bei der chemischen Analyse verwendet werden und chemische Veränderungen der lebenden Materie hervorrufen. Nach den üblichen chemischen Methoden können wir also nur leblose Zellbestandteile untersuchen. Es ist aber klar, daß leblose Substanzen, die das tote Protoplasma usw. zusammensetzen, von den Substanzen des lebenden Protoplasmas usw. herstammen und also als Produkte seiner chemischen Zersetzung betrachtet werden können. Diese Produkte möchten wir jetzt näher betrachten.

Das Protoplasma ist bis jetzt nur wenig untersucht worden, und eine vollständige chemische Analyse wurde nur von *Reinke*[1]) an Plasmodien der Myxomyceten und von *Lilienfeld*[2]) an Leucocyten gemacht. Neuerdings habe auch ich über die chemische Analyse des Plasmodiums von Fuligo varians kurz berichtet[3]). Außerdem ist die chemische Zusammensetzung der kernlosen Erythrocyten bekannt, die ausschließlich aus dem Protoplasma bestehen, weil ihre Pellicula nur außerordentlich dünn ist und als verdichtetes Protoplasma betrachtet werden kann[4]).

Als *Reinke* eine chemische Analyse des Plasmodiums unternahm (1881), kannte man nur wenig von der chemischen Konstitution der Eiweißkörper, die erst später als aus Aminosäuren zusammengesetzte Verbindungen angesehen wurden. Die Konstitution von Nucleinen und Nucleoproteiden, die bekanntlich erst von *Kossel* (1894) gründlich untersucht wurden, war zur Zeit *Reinkes* ebenfalls unbekannt. Es ist also vollkommen begreiflich, daß *Reinke* sich mit der Elementaranalyse eines durch verdünnte Kalilauge, Salzsäure, Äther und Alkohol erschöpften Preßrückstandes des Plasmodiums und mit der Bestimmung der Lipoide (Cholesterin, Harze, Fette) und der wichtigsten in den Preßsaft übergegangenen kristallinischen Substanzen

[1]) *Reinke*, Unters. aus d. bot. Laboratorium Göttingen 1881 bis 1883. Einleitung in die theoretische Biologie. Berlin 1911.

[2]) *Lilienfeld*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**, 473, 1894.

[3]) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **41**, 179, 1923.

[4]) Vgl. meinen Aufsatz in „Biologia generalis" 1, H. 7, 1925 (Wien, Verlag Emil Haim): „Rote Blutkörperchen im Lichte der Kolloidchemie".

(Xanthinbasen, Aminosäuren u. a.) begnügte. Außerdem stellte er die Menge von Wasser und Mineralstoffen im Plasmodium fest.

Die Elementaranalyse des erwähnten Preßrückstandes, der von *Reinke* als *Plastin* bezeichnet wurde, ergab einen zu kleinen Stickstoffgehalt (ungefähr 12 Proz.) im Vergleich mit dem der Eiweißkörper (16 bis 18 Proz.). Infolgedessen schloß *Reinke*, daß das Plastin, „diese unter den Bestandteilen des Protoplasmas vielleicht wichtigste Verbindung, entweder den Eiweißstoffen sehr nahe" zu stehen oder „eine Annäherung an das relativ stickstoffarme Nuclein" zu zeigen scheine.

Da aber das Plastin auch ziemlich viel (2,15 Proz.) Phosphor enthielt, vermutete *Reinke*, daß es vielleicht eine Verbindung eines typischen Eiweißstoffes mit einer organischen Phosphorverbindung sei. Das calciumcarbonatfreie, lufttrockne Plasmodium enthielt ungefähr 40 Proz. Plastin, obwohl seine Menge nur sehr annähernd nach dem Stickstoffgehalt berechnet wurde.

Außer dem Plastin enthält das Plasmodium, nach *Reinke*, eine unbedeutende Menge in Wasser löslicher Eiweiße. Nach dem Verreiben des Plasmodiums mit einer 10proz. Lösung von NaCl geht aber eine bedeutende Menge von „Vitellin" in Lösung.

Die Analyse, welche *Lilienfeld* an Leucocyten gemacht hat, wurde unter einer ständigen Aufsicht von *Kossel* und nach den Methoden desselben ausgeführt und gibt ein vollständiges Bild der chemischen Zusammensetzung der Leucocyten. Diese enthalten, nach *Lilienfeld*, 68,78 Proz. trockener Substanz an Nuclein und 8,67 Proz. an Histon, die in den Zellen zu Nucleohiston und Nucleoproteid verbunden sind. Da Nucleohiston, nach moderner Terminologie ebenfalls als Nucleoproteid bezeichnet werden muß, so sind also in der trockenen Substanz der Leucocyten 77,45 Proz. Nucleoproteide vorhanden.

Der Rest besteht, nach *Lilienfeld*, aus Lipoiden (Cholesterin 4,4 Proz., Lecithin 7,51 Proz., Fette 4,02 Proz.), Eiweiß und Glykogen (1,76 und 0,8 Proz.). Da die Leucocyten, nach demselben Verfasser, meist einkörnige Zellen sind, in denen die Masse des Kernes diejenige des Cytoplasmas übertrifft, so ist vielleicht der Gehalt von Nucleoproteiden im Protoplasma selbst nicht so bedeutend, wie der der ganzen Zelle. Jedenfalls kann aber dieser Gehalt nicht unter 65 bis 70 Proz. sein.

Was nun kernlose Erythrocyten anbelangt, so enthält ihre trockene Substanz ungefähr 95 Proz. Hämoglobin, d. h. ein Proteid; der Rest besteht aus Lipoiden (Lecithin, Cholesterin) und Eiweiß.

Sosnowski[1]), der eine teilweise Analyse des Protoplasmas von Paramaecium caudatum unternahm, gibt ebenfalls an, daß dasselbe keine genuinen

[1]) *Sosnowski*, Beitr. z. Chemie d. Zelle, Zentralbl. f. Physiol. **13**, 267, 1900.

Eiweißkörper (also Proteine) enthält. Es sollen dagegen ungefähr 50 Proz. Protoplasmasubstanz in Lösung gehen, wenn ihre Masse der Behandlung von 0,2 proz. kaustischem Alkali oder einer 0,3proz. Sodalösung unterworfen wird. Beim Ansäuern mit Essigsäure fiel, im Versuche des genannten Autors, das Gelöste vollständig aus, gab Biuretreaktion, war phosphorhaltig und zeigte beim Kochen mit Phloroglucin und Salzsäure den für Pentosen charakteristischen Streifen. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß auch das Protoplasma von Paramaecium hauptsächlich aus Proteiden zusammengesetzt ist.

Beachten wir die zuerst von *Hartig* und *Sachs* betonte Tatsache, daß das Protoplasma der Pflanzen bei mikrochemischen Untersuchungen sehr oft nicht direkt gewöhnliche Eiweißreaktionen gibt, und daß, nach *Loew*[1]), das in Kalilauge gelöste Plastin *Reinkes* nach Ausfällung mit Essigsäure gewöhnliche Eiweißreaktionen gibt, so kommen wir zu dem Schluß, daß in allen untersuchten Fällen freie Eiweiße (Proteine) am Aufbau des Protoplasmas nicht beteiligt sind; das letztere enthält dagegen Eiweißverbindungen (Proteide) stets in großer Menge, und oft besteht es aus diesen Verbindungen beinahe vollkommen.

Im Falle der Leucocyten sind diese Verbindungen Nucleoproteide, d. h. Verbindungen von Proteinen (gewöhnliche Histonen und Protaminen) mit Nucleinsäuren. Bei Erythrocyten sind sie Hämoglobine, d. h. Verbindungen von Proteinen (Globinen) mit Hämatin.

Außerdem enthält das Protoplasma in allen untersuchten Fällen eine bedeutende Menge Lipoide (d. h. hauptsächlich Phosphatide, Sterine, Fette).

In diesem Aufsatz möchte ich einige Resultate der chemischen Analyse des Plasmodiums von Fuligo varians besprechen, die ich vor kurzem in der oben zitierten Arbeit zum Teil mitgeteilt habe.

2. Produkte der chemischen Zersetzung des Protoplasmas von Fuligo varians.

Zur chemischen Analyse gebrauchte ich die Plasmodien von Fuligo varians, die sich auf Kieferstümpfen entwickelt hatten und sich in junge Fruchtkörper zu verwandeln im Begriff waren. Unter dem Mikroskop zeigte sich das innere Protoplasma des Plasmodiums als ein zähflüssiger Körper, der in Wasser und schwachen Zuckerlösungen sich zu Kugeln abrundete. Das peripherisch gelagerte Protoplasma hatte die Konsistenz einer Emulsionsgallerte[2]), die bei der Abfertigung des mikroskopischen Präparats zähflüssig wurde. Überall waren im Protoplasma Vakuolen zerstreut.

[1]) *O. Loew*, Bot. Ztg. 1884, S. 113.

[2]) Vgl. meine „Kolloidchemie des Protoplasmas", S. 28 bis 29. Berlin 1924.

Die Anzahl und das Volumen der Kerne (an den gefärbten Präparaten) ließen voraussetzen, daß das Volumen der Kernmasse nicht mehr als 10 Proz. der Gesamtmasse des Plasmodiums ausmachte.

Das Austrocknen (bei 130° C) der zur Analyse verwendeten Plasmodiumproben zeigte, daß das Plasmodium eine sehr große Wassermenge enthält. Diese Menge wurde, je nach der Feuchtigkeit der Luft, der Niederschläge usw. zu 79,3 bis 80,0 Proz. ermittelt. Nach *Reinke* ist der Wassergehalt des Plasmodiums 71,6 Proz. Den von ihm erhaltenen kleineren Wert kann man dadurch erklären, daß das Versuchsmaterial *Reinkes* sich auf dem Lohehaufen einer Gerberei entwickelt hatte und deshalb eine sehr große Kalkmenge enthielt (ungefähr 27 bis 41 Proz. $CaCO_3$ im luftrockenen Plasmodium, l. c., S. 14), während meine Plasmodien sich auf dem Holze der Kieferstümpfe entwickelt haben und kalkarm waren. Die trockene Substanz des Plasmodiums *Reinkes* war also bedeutender.

Das Wasser des Plasmodiums ist zum Teil im Protoplasma gelöst, zum Teil bildet es aber Vakuolen, die nach der Sättigung des letzteren mit Wasser entstehen[1]). Alle wasserlöslichen Substanzen des lebenden Plasmodiums sind also offenbar entweder in dem das Protoplasma durchtränkenden Wasser gelöst oder in den Vakuolen gespeichert. Das Protoplasma stellt aber keine Lösung verschiedener Substanzen in Wasser dar, die von Außen- und Innenflüssigkeit durch eine „Plasmahaut" abgetrennt ist, sondern es ist als eine organische Flüssigkeit, in der Wasser gelöst ist, aufzufassen. Infolgedessen spielen wasserlösliche Stoffe am Aufbau des Protoplasmas wahrscheinlich eine untergeordnete Rolle und sind meist Abbauprodukte.

Obwohl nicht ausgeschlossen ist, daß in gewissen Fällen die Hauptmasse der Protoplasmastoffe beim Absterben zu wasserlöslichen Stoffen zersetzt wird (so z. B. bei Erythrocyten), sind diese Stoffe jedenfalls kompliziert gebaute Körper mit großen Molekülen (z. B. Hämoglobin). Im Gegensatz dazu besteht der wasserlösliche Anteil des Plasmodiums von Fuligo varians fast ausschließlich aus einfacheren organischen Stoffen (14,5 Proz. Glykose, 20 Proz. Aminosäuren, Purinbasen usw.) und organischen Salzen (2,2 Proz.), während er nur 2,2 Proz. Eiweißkörper enthält[2]). Im Falle des Plasmodiums besteht also der wasserlösliche Teil sicher nur aus Abbau- und Stoffwechselstoffen. Der Sitz der Lebensfähigkeit befindet sich aber offenbar nur im in Wasser unlöslichen Anteil des Plasmodiums.

Da die Menge der wasserlöslichen organischen Stoffwechselprodukte offenbar variieren kann, ist auch die Menge des in Wasser unlöslichen Anteils des Plasmodiums bei verschiedenen Individuen ungleich. Sie

[1]) Vgl. meine Aufsätze in „Biologia generalis" **1**, Wien, E. Haim, 1925; in Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1926 und auch Kolloidchemie des Protoplasmas, S. 143. Berlin 1924.

[2]) Meine Aufsätze in Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1923, S. 181.

war in meinen Versuchen 52 bis 65 Proz. des Trockengewichts des Plasmodiums. Als Ausnahme wurden sogar in einem Plasmodium nur 49,5 Proz. des Trockengewichts in Wasser unlöslicher Stoffe gefunden. In diesem Falle enthielt aber das Plasmodium besonders viel Wasser (89,5 Proz.).

Bei der chemischen Untersuchung des in Wasser unlöslichen Anteils des Plasmodiums muß man beachten, daß dasselbe aus kolloidalen Stoffen besteht, welche ihre kolloidalen Eigenschaften bei der Einwirkung der gebräuchlichen Reagenzien verändern können. Es ist z. B. bekannt, daß in reinem Wasser unlösliches Globulin nach Behandlung mit Alkohol auch in Salzlösungen unlöslich wird. Nach Behandlung mit Alkohol und Austrocknen büßen manche Eiweißkörper sogar ihre Löslichkeit in schwachen Alkalien ein usw. Zur chemischen Untersuchung des Plasmodiums eignet sich also das Alkoholmaterial nicht. Deswegen habe ich ausschließlich entweder lebende oder durch solche abtötend wirkende Stoffe konservierte Plasmodien verwendet, die kolloidale Eigenschaften der Plasmodiumsubstanzen nicht verändern. Da in meinen Versuchen der Stammort der Plasmodien vom Untersuchungsort entfernt war und da die Behandlung mit Wasser oder Salzlösungen mehrere Stunden verlangte, setzte ich zum Wasser, in dem das Plasmodium aufgeschwemmt war, 0,02 Proz. Thymol und in einigen Fällen 6 Proz. Alkohol oder 4 Proz. Äther zu. Diese Konzentration bewirkt keine merkliche Denaturation der Eiweißkörper bei Zimmertemperatur, genügte aber vollkommen, um die Fäulnis zu hemmen und das Protoplasma abzutöten.

Am Stammort der Plasmodien hatte ich außerdem ein kleines Laboratorium, das mir gestattete, die entnommenen Plasmodiumproben genau abzuwägen und den Wassergehalt der Proben zu bestimmen. Um die Oxydation der Plasmodiumstoffe zu vermeiden, wurden die in Wasser aufgeschwemmten Plasmodiumproben in kleinen Fläschchen mit geschliffenen Propfen aufbewahrt.

Nach der Behandlung der Plasmodiumproben mit Wasser wurden diese, immer in feuchtem Zustande, der weiteren Behandlung der Reagenzien unterworfen; der wasserlösliche Teil des Plasmodiums wurde durch Abdampfen des Filtrats und durch Abwägen des ungelösten Restes (nach Abtrocknen im Vakuum) bestimmt.

Ich führe hier die in einem meiner Versuche erhaltenen Zahlen an. Das Gewicht der Plasmodiumprobe war 7,1960 g. Wassergehalt des betreffenden Plasmodiums 88,2 Proz. Wasserlösliche Stoffe (ausgetrocknet im Exsikkator) 0,2956 g, d. h. 34,76 Proz. des Trockengewichts des Plasmodiums. Der in Wasser unlösliche Teil macht also 65,24 Proz. des Trockengewichts.

Der in Wasser unlösliche Anteil des Plasmodiums entsprach in meinen Versuchen dem Plastin *Reinkes* + Lipoide (Fette, Fettsäuren,

Phytosterin, Phosphatide). Um die Menge von Plastin festzustellen, habe ich den in Wasser unlöslichen Anteil des Plasmodiums dem Austrocknen und der Extraktion mit Alkohol-Äther unterworfen. Die Menge der erhaltenen Lipoide variierte (im Trockengewicht des Plasmodiums) zwischen 7 und 14 Proz. [Fette + Fettsäuren 3 bis 10 Proz., Phytosterin 2,4 bis 5,5 Proz. und Phosphatide 0,7 bis 2 Proz.[1])]; die Menge des Plastins war in vier Versuchen folgerecht: 57,6, 49,7, 44,7 und 39,8 Proz. des Trockengewichts des Plasmodiums. Dieses Plastin enthielt jedenfalls noch Mineralsalze, die durch Verbrennen festgestellt waren und deren Menge zwischen 2,1 und 2,5 Proz. des Trockengewichts des Plasmodiums variierte. Wenden wir uns nun zur näheren chemischen Untersuchung des Plastins.

3. Chemische Zusammensetzung des „Plastins".

Die Elementaranalyse von Plastin wurde, wie erwähnt, von *Reinke* gemacht. Der von ihm gefundene zu niedrige Stickstoffgehalt dieser Substanz wurde neuerdings von *Iwanoff* bestätigt[2]). Daß sie aber eine Eiweißverbindung darstellt, folgt schon aus den oben erwähnten Angaben von *Loew*. Die Proteidnatur von Plastin wird auch durch die Einwirkung von Trypsin auf durch Alkohol-Äther extrahierte Plasmodien bestätigt. Nach *Walter*[3]) sollen solche Plasmodien von Trypsin vollkommen verdaut werden. Mit Pepsin-HCl bleibe aber die Verdauung unvollständig. Die Verdauung dauerte in den Versuchen *Walters* 24 bis 48 Stunden; das Verhalten des Plasmodiums erinnert also an das der Nucleoproteide, die ebenfalls bei einer verhältnismäßig kurzen Dauer der Verdauung nur teilweise gelöst werden, während sie von Trypsin vollkommen verdaut werden.

Meine Versuche zeigten, daß Plastin aus zwei Stoffgruppen besteht, die sich voneinander durch ihre verschiedene Beständigkeit gegen Reagenzeinwirkungen unterscheiden. Die eine, größere Stoffgruppe (ungefähr 36 bis 52 Proz. des Trockengewichts des Plasmodiums), löst sich in 1proz. Kalilauge (nach der Extraktion mit Alkohol-Äther), in 5proz. H_2SO_4 beim Kochen und in Pepsin-Salzsäure bei einer lange dauernden Verdauung (Pepsin, 1 Proz., HCl, 0,4 Proz., Temperatur 28° C, keine vorherige Behandlung mit Alkohol-Äther). Die zweite, kleinere Stoffgruppe (3,1 bis 7,5 Proz. des Trockengewichts des Plasmodiums) löst sich dagegen nicht in den angeführten Reagenzien. Um die chemische Zusammensetzung des größeren Anteils des Plastins zu erforschen,

[1]) Vgl. meinen oben zitierten Aufsatz in Ber d. Deutsch. Bot. Ges. 1923, S. 186.

[2]) *N. Iwanoff*, diese Zeitschr. **162**, 444, 1925.

[3]) *H. Walter*, ebendaselbst **122**, 90, 1921.

habe ich seine Hydrolyse mit 5proz. H_2SO_4 bei 100° C am Rückflußkühler unternommen.

17,720 g des durch Thymol abgetöteten Plasmodiums wurden mit Wasser extrahiert, auf einem abgewogenen Filter gesammelt und im Exsikkator ausgetrocknet. Der trockene Rückstand, der 1,4110 g wog, wurde mit Alkohol-Äther extrahiert, wobei sich 0,3488 g Lipoide (d. h. Fette, Phytosterin, Phosphatide) in Lösung gingen. Da das Plasmodium 85,7 Proz. Wasser enthielt, betrug das Plastin 1,0622 g oder 41,9 Proz. des Trockengewichts des Plasmodiums. Dieses Plastin wurde 48 Stunden mit 5proz. Schwefelsäure am Rückflußkühler gekocht, die Flüssigkeit heiß filtriert und auf dem Wasserbad abgedampft (um die Hydrolyse zu vervollkommnen), dann wieder mit heißem Wasser verdünnt und mit heißer Barytlösung versetzt, bis Schwefelsäure entfernt war. Die Flüssigkeit wurde durch heiße Filtration vom entstandenen $BaSO_4$ befreit und abgekühlt[1]). Nach dem Erkalten setzten sich sternförmig gruppierte kleine Blättchen von Kristallen ab, die, auf einem abgewogenen Filter gesammelt, 0,0482 g ausmachten und sich als *Thymin*kriställchen erwiesen. Ihre Lösung gab nach Versetzen mit $AgNO_3$ beim vorsichtigen Zusatz von Ammoniak einen in überschüssigem Ammoniak löslichen voluminösen Niederschlag; sie gab keinen Niederschlag mit Phosphorwolframsäure. Der Schmelzpunkt der Kristalle war 318 bis 322° (unter Gasentwicklung). Die etwas saure Lösung der Hydrolyseprodukte, die mit Bleiessig keine Trübung gab, wurde mit Phosphorwolframsäure versetzt, bis der Niederschlag noch entstand. Der Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat mit Baryt etwas alkalisch gemacht. Der Überschuß von Baryt wurde von H_2SO_4 entfernt und die Flüssigkeit (nach Filtration) eingeengt und abgekühlt[1]): reichliche Kristallbildung. Außer *Thymin* sind zwischen den Kristallen auch Nadeln von *Uracil* gefunden worden. Die Menge der kristallinischen Masse (auf der Nutsche abgesaugt und getrocknet) wurde zu 0,1334 g bestimmt. Die Anwesenheit von Uracil wurde durch *Weidels* Reaktion festgestellt. Die Gesamtmenge von *Thymin* und *Uracil* war also 0,1816 g.

Der Wolframsäureniederschlag wurde durch Baryt zersetzt, der Überschuß desselben durch Schwefelsäure entfernt und die Flüssigkeit klar filtriert. Zum schwach sauren Filtrat wurde Silbernitratlösung zugesetzt, der Niederschlag der Purinbasen abfiltriert, durch HCl zerlegt, das neue Filtrat bis zur Trockne abgedampft (HCl entfernt) und der Rückstand in heißem Wasser gelöst. Da die erhaltene Lösung kein Guanin (keine Trübung mit NH_3) und kein Adenin (mit Natriumpikrat geprüft) enthielt, wurde sie mit Silbernitrat vermischt und aus den abgesetzten Silberverbindungen *Xanthin* und *Hypoxanthin* erhalten. Die Gesamtmenge dieser Basen war 0,0376 g. Das Filtrat von den Silberverbindungen der Purinbasen wurde nach *Kossel* und *Kutscher* mit Silbernitrat und Barytwasser behandelt, der Niederschlag (mit Barytwasser angerieben, an einer Nutsche abgesogen und gewaschen) wurde mit HCl zersetzt, die abfiltrierte Flüssigkeit bis zur Trockne abgedampft und die auskristallisierten Basen abgewogen. Ihre Menge war 0,2062 g. Sie wurden in heißem Wasser gelöst

[1]) Um den Verlust der Hydrolyseprodukte durch Adsorption zu vermeiden, wurden in allen meinen Versuchen die Niederschläge von Bariumsulfat (bzw. Bariumwolframat) stets in angesäuertem Wasser ausgekocht und das Waschwasser abgedampft und mit dem Filtrat vereinigt.

und *Cytosin* durch Natriumpikrat niedergeschlagen. Cytosinpikrat wurde durch HCl zerlegt und nach Entfernung von Pikrinsäure durch Benzol wurde *Cytosinchlorid* in kristallinischer Form abgewogen. Seine Menge war 0,0487 g, was 0,0368 g freier Base entspricht. Die Menge der Chloride von *Arginin* und *Histidin* war also 0,1294 g, was ungefähr 0,064 g freier Basen entspricht. Die Basen wurden im weiteren qualitativ geprüft. Im Filtrat von Silberverbindungen von Histidin, Arginin und Cytosin wurden 0,0530 g Lysin, abgewogen als Pikrat, gefunden, was 0,029 g freier Base entspricht.

Das Abwägen des Rückstandes des Plastins nach der Hydrolyse mit Schwefelsäure (48 Stunden, vgl. S. 133) zeigte, daß 0,5950 g des Plastins dabei gelöst waren. Wir sahen, daß der gelöste Teil 0,1816 g Uracil und Thymin, 0,0376 g Xanthin und Hypoxanthin, 0,0368 g Cytosin, 0,064 g Arginin und Histidin und 0,029 g Lysin, also 0,349 g Purin-, Pyrimidin- und Hexonbasen enthielt. Der Rest (ungefähr 0,28 g) bestand zum Teil aus Phosphorsäure und Kohlehydraten, zum Teil war er aber offenbar von Niederschlägen adsorbiert. Bezeichnen wir alle Verbindungen von Proteinen (Eiweißen) mit Nucleinsäuren als Nucleoproteide[1]), nehmen wir mit *Kossel*[2]) an, daß die Abspaltung von Xanthinbasen eine charakteristische Eigenschaft derselben ist, und erinnern wir uns daran, daß am Aufbau der Nucleoproteide Histone oder Protamine teilnehmen, von denen die letzteren fast nur aus den Hexonbasen (Arginin, Histidin, Lysin) bestehen, so kommen wir zu dem Schluß, daß der durch die erste Hydrolyse gelöste Teil des Plastins aus Nucleoproteiden besteht.

Weitere Hydrolyse des ungelösten Rückstandes des Plastins mit 5proz. H_2SO_4 (48 Stunden) führte in meinen Versuchen zu einer neuen Auflösung seiner Substanz, wobei 0,229 g Stoffe in Lösung gingen. Die Lösung, die nach Entfernung von H_2SO_4 keine Trübung mit Bleiessig gab, wurde mit Phosphorwolframsäure versetzt (saure Flüssigkeit). Der entstandene Niederschlag war so unbedeutend, daß er nicht weiter untersucht werden konnte. Dagegen wurde im Filtrat 0,040 g Thymin gefunden (sternförmig angeordnete Kristalle, die sich nach Abdampfen und Erkühlen der Lösung absetzten und die, gelöst, mit $AgNO_3$ Niederschlag nach Zusatz von Barytwasser gaben). Die durch Abfiltrieren der Thymin-Kristalle erhaltene Lösung gab *Weidel*sche Reaktion nicht, so daß Uracil fehlte. Da die Lösung auch einen Niederschlag mit $HgNO_3$ gab, konnte man voraussetzen, daß sie Asparagin- oder Glutaminsäure enthielt. Phosphorsäure war ebenfalls reichlich vorhanden. Die Produkte der zweiten Hydrolyse bestanden also hauptsächlich aus Thymin. Weitere Hydrolyse mit 5proz. H_2SO_4 (48 Stunden) löste noch 0,022 g Plastin. Die Produkte der Hydrolyse konnten aber diesmal nur qualitativ untersucht werden. Sie enthielten Cytosin, Arginin, Histidin, Lysin (?), Monosaccharide und Phosphorsäure. Andere Aminosäuren und Basen konnten nicht entdeckt werden (keine Trübung mit $AgNO_3$ oder, nach Entfernung von H_2SO_4, mit Bleiessig, dagegen war *Weidel*sche Reaktion positiv).

Somit enthielten die Produkte der zweiten und dritten Hydrolyse nur Abbauprodukte der Nucleoproteide, die sich offenbar am schwierigsten zersetzten.

---

[1]) *Abderhalden*, Lehrb. d. physiol. Chem., 4. Aufl., I. T., 1920, S. 693.
[2]) *Kossel*, Verhandl. d. phys. Ges. Berlin 1891.

Der durch 5proz. H_2SO_4 hydrolysierbare Anteil von Plastin besteht nicht ausschließlich aus Nucleoproteiden, sondern er enthält eine verhältnismäßig kleine Menge von freien Nucleinsäuren, die im Gegensatz zu Nucleoproteiden des Plastins in 10proz. NaCl nicht löslich sind, und eine sehr kleine Menge Globulin.

Behandelt man das Plasmodium mit Wasser, 10proz. NaCl und unterwirft man den durch Alkohol-Äther extrahierten Rückstand der Einwirkung von 1proz. Kalilauge, so geht eine Substanz in Lösung, welche keine Biuret-, Millons- und Xanthoproteinreaktion, sondern mit α-Naphthol und H_2SO_4 einen violetten Ring und mit Bleiessig (nach Ansäuern mit Essigsäure) einen Niederschlag ergibt. Nach Abdampfen der angesäuerten Lösung bis zu einem kleinen Volumen scheidet sich ein Niederschlag aus, der keine Millon-, Xanthoprotein- und Biuretreaktion, dagegen α-Naphtholreaktion gibt. Dieser Niederschlag, im Vakuum ausgetrocknet, beträgt ungefähr $2\frac{1}{2}$ Proz. des Trockengewichts des Plasmodiums (also ungefähr 5 Proz. des Plastins). Seine Menge variiert aber bei verschiedenen Plasmodien. Globulin scheidet sich als ein unwägbarer Niederschlag beim Ansäuern der durch die Behandlung des Plasmodiums (das vorher mit Wasser extrahiert war) mit 10proz. NaCl erhaltenen Lösung mit Essigsäure aus. Seine Menge wurde zu etwa 1 Proz. des Plastins bestimmt.

Resumieren wir die Resultate der drei nacheinander folgenden Hydrolysen von Plastin mit 5proz. H_2SO_4, so kommen wir zu dem Schluß, daß der größte Teil dieser Substanz (0,846 g von 1,0622 g Plastin) hauptsächlich aus Nucleoproteiden besteht. Unter den Basen, die die letzteren aufbauen, spielt Thymin die Hauptrolle; weiter sind Uracil, Cytosin, Arginin, Histidin, Lysin, Asparagin- oder Glutaminsäure, Kohlehydrate und Phosphorsäure am Aufbau der Plastin-Nucleoproteide beteiligt. Arginin, Histidin und Lysin entstammen offenbar den Protaminen, die gemeinsam mit Nucleinsäuren die Nucleoproteide des Plastins bilden.

In Übereinstimmung damit fand *N. Iwanoff* (l. c.) bei der Hydrolyse des „Eiweißes", das er durch Extraktion des getrockneten und entfetteten Plasmodiums durch Salzsäure erhalten hatte, nur drei genannte Aminosäuren. Dieses „Eiweiß" wurde von *Iwanoff* aus dem Extrakte mit Phosphorwolframsäure niedergeschlagen (l. c., S. 445). Somit enthielt es nicht nur das von den Nucleoproteiden abgespaltene Protamin, sondern auch Cytosin und Purinbasen. Es ist also verständlich, daß *Iwanoff* aus 10 g „Eiweiß" nur 1,3827 g Hexonbasen erhalten konnte.

Was nun den durch 5proz. H_2SO_4 nicht hydrolysierbaren Teil des Plastins anbetrifft, der, wie oben erwähnt, auch in 1proz. KOH und Pepsin-Salzsäure nicht löslich ist, so wurde er in meinen Versuchen durch 30proz. H_2SO_4 hydrolysiert. Ich unterlasse hier die Beschreibung meiner diesbezüglichen Versuche, weil ich sie in meiner oben zitierten Arbeit ausführlich beschrieben habe[1]). Ich erlaube mir hier nur, daran

[1]) Vgl. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1923, S. 185.

zu erinnern, daß dieser Teil des Plastins („Plasmatin") aus Lipoproteiden zu bestehen scheint. Diese ließen sich in Phytosterin, Fettsäuren, Asparaginsäure (oder Glutaminsäure) und ein Kohlehydrat zerlegen.

Reinkes Plastin besteht also hauptsächlich aus Nucleoproteiden und Lipoproteiden, von denen die ersteren zum Teil (etwa 10 Proz. ihrer Gesamtmasse) von den Zellkernen herstammen. Seinen verhältnismäßig niedrigen Stickstoffgehalt kann man durch Anwesenheit der Lipoproteide, von viel Phosphorsäure (nach *Reinke* enthält das Plastin 2,15 Proz. P oder 4,8 Proz. P_2O_5), Kohlehydraten und stickstoffarmer Glutaminsäure (bzw. Asparaginsäure) erklären. Manche pflanzliche Nucleine, wie z. B. Gerstennuclein, enthalten ebenfalls wenig Stickstoff[1]), vermutlich dank der Anwesenheit von Asparagin- bzw. Glutaminsäure, die in den Pflanzen weit verbreitet sind. Nehmen wir an, daß Lipoproteide des Plastins („Plasmatins") von gleichen Mengen Asparaginsäure und stickstofflosen Substanzen (Phytosterin, Fettsäuren, Kohlehydrat) zusammengesetzt sind, und daß der in den oben beschriebenen Versuchen nicht quantitativ bestimmte Rest desjenigen Plastinteils, der durch 5proz. H_2SO_4 hydrolysiert wurde, ebenfalls aus gleichen Mengen Asparaginsäure und stickstofffreier Substanzen (Phosphorsäure, Kohlehydraten) besteht, so müssen wir den Stickstoffgehalt des Plastins gleich 12,3 Proz. setzen[2]). Dieser Gehalt wurde aber von *Reinke* zu 12 Proz. bestimmt.

Iwanoff nimmt den Stickstoffgehalt des Platins zu 10 Proz. an (l. c., S. 444); man muß aber betonen, daß sein Plastin eine größere Menge von Kohlehydraten enthielt (13,16 Proz. Monosaccharide wurden nach einer Hydrolyse gefunden, l. c., S. 447). Es ist möglich, daß diese Kohlehydrate nur zum Teil den Nucleoproteiden entstammen. Ihr anderer Teil dürfte im Plasmodium (bzw. Plastin) in Form von leicht hydrolysierbaren Polysacchariden (Gummi, Glykogen, Hemicellulose) anwesend sein, die als Stoffwechselprodukt aufzufassen wären und die für die Bildung der aus Cellulose bestehenden Zellwände der Sporen verwendet werden.

Im Plasmodium, das in meinen Versuchen analysiert wurde, waren die Kohlehydrate zum Teil in Zuckerform (bis 14,2 Proz., vgl. meinen oben zitierten Aufsatz) vorhanden, zum Teil aber mit Basen zu Nucleoproteiden verbunden, weil sie durch Pepsin bei einer langen Wirkungs-

---

[1]) *Petit*, C. r. **8**, 995, 1893.

[2]) Thymin und Uracil enthalten im Mittel 21,5 Proz. N. Ihre Menge war 0,2216 g. Cytosin (0,0368 g) enthält 36 Proz. N; Xanthin und Hypoxanthin (0,0376 g) 35 Proz.; Arginin und Histidin (0,064 g) 28 Proz. N; Lysin (0,029 g) 17 Proz. N.; Asparaginsäure 10 Proz. N. Der nicht quantitativ bestimmte Rest der Hydrolyseprodukte wog 0,846 — 0,379 = 0,467 g, die Lipoproteide 0,216 g. Der mittlere Stickstoffgehalt des Plastins ist also (0,2216 . 21,5 + 0,0368 . 36 + 0,0376 . 35 + 0,064 . 28 + 0,029 . 17 + 0,467 . 5 + 0,216 . 5): 1,062 = 12,3 Proz.

dauer, gemeinsam mit Pyrimidin- und Purinbasen, in Form von Monosacchariden (oder ihrer Aminoabkömmlige) in Lösung gingen[1]). Wären sie auch in meinem Plasmodium als Polysaccharide vorhanden, so konnten sie durch Pepsin nicht gelöst werden.

Der verhältnismäßig niedrige Stickstoffgehalt des Plastins spricht also nicht gegen seine Proteidnatur. Sowohl Nucleoproteide als auch Lipoproteide, die dieses Plastin zusammensetzen, enthalten eine große Menge stickstofffreier Substanzen (Phosphorsäure, Kohlehydrate, Phytosterin), welche bekanntlich auch in anderen Nucleoproteiden und Proteinen nie fehlen.

Wie früher erwähnt, werden mit Wasser extrahierte Plasmodien (in feuchtem Zustande) durch Pepsin-Salzsäure bei einer 14tägigen Einwirkungsdauer zum großen Teil verdaut, so daß nur Lipoide und Lipoproteide („Plasmatin") zurückbleiben. Diese Tatsache widerspricht nicht der Voraussetzung, daß Plastin hauptsächlich aus Nucleoproteiden besteht, weil, wie ich schon in meiner oben zitierten Arbeit betont habe, seit *Hammarsten* bekannt ist, daß bei einer lange dauernden Verdauung das zunächst entstehende Nuclein gespalten und gelöst werden kann.

Bekanntlich werden Nucleoproteide zu Eiweiß und Nuclein schon unter Einwirkung von Kalilauge gespalten. Auf diese Weise habe ich aus Nucleoproteiden des Plastins ein Nuclein erhalten, das bei der Hydrolyse ein Histon (oder Protamin), Purin- und Pyrimidinbasen und Phosphorsäure lieferte (vgl. meine oben zitierte Arbeit, S. 183).

Auf Grund der mitgeteilten Tatsachen denke ich berechtigt zu sein, anzunehmen, daß der in Wasser unlösliche Anteil des Plasmodiums von Fuligo varians, wie der der Leucocyten, hautsächlich aus Nucleoproteiden besteht, an welche sich Lipoide, Lipoproteide, anorganische Salze und manchmal Polysaccharide anschließen. Der wasserlösliche Teil des Plasmodiums besteht hauptsächlich aus einfacheren organischen Verbindungen, die als Abbauprodukte der Nucleoproteide und Proteine aufzufassen sind. Wasserlösliche Eiweißkörper machen im Plasmodium nur einen sehr geringen Teil aus.

4. Gemeinsames in der Zusammensetzung des Protoplasmas und anderer Arten der lebenden Materie.

Wie aus den vorhergehenden Paragraphen hervorgeht, ist die chemische Zusammensetzung der drei untersuchten Arten des Protoplasmas, also die des Protoplasmas der Leucocyten, der roten Blutkörperchen und des Plasmodiums, insofern ähnlich, als in allen Fällen

[1]) Vgl. l. c., S. 183.

der größte Teil des Protoplasmas aus Proteiden, Lipoiden und Wasser besteht. Andererseits sind sowohl Proteide als auch Lipoide bei verschiedenen Protoplasmaarten aus verschiedenen Bausteinen gebaut. Man muß außerdem betonen, daß Nucleoproteide, die nach früheren Ansichten ausschließlich in den Zellkernen vorkommen, wie wir sahen, Hauptbestandteile des farblosen Protoplasmas darstellen, während Proteine, die in demselben nur in kleinen Mengen vorkommen, als Abbau- und Stoffwechselprodukte angesehen werden können. Die Proteide, die den Zellkern zusammensetzen, dürfen aber im allgemeinen den Proteiden des Protoplasmas auch in ein und derselben Zelle nicht gleich sein. So enthalten z. B. die Zellkerne der roten Blutkörperchen farblose Proteide. *Lilienfeld* (l. c.), der nicht nur das Protoplasma, sondern auch die Bestandteile der Zellkerne der Leucocyten untersuchte, fand in den Kernen Nucleoproteide, die denjenigen des Protoplasmas nicht gleich waren und daher von ihm mit einem besonderen Namen benannt wurden („Nucleohiston").

Ich unterlasse hier eine ausführliche Besprechung der vorhandenen Literaturangaben betreffend die chemischen Bausteine der Zellkerne. Man findet solche Besprechung im Referat von *Zacharias*[1]) und im Buche von *A. Meyer*[2]). Ich möchte aber betonen, daß die in den Kernen gefundenen Nucleine, Nucleohistone, Nucleinsäurehistone usw., die als Hauptbestandteile der Kerne bezeichnet werden können, im allgemeinen zu den Nucleoproteiden gerechnet werden müssen, weil die letzteren Verbindungen der Proteine mit Nucleinsäuren darstellen. Außer Nucleoproteiden sind in den Kernen auch stets Lipoide anwesend, obwohl ihr Gehalt geringer als im Protoplasma zu sein scheint.

Was nun die chemische Zusammensetzung der Chromatophoren der Pflanzen anbelangt, so gab schon *Sachs* an, daß nach Extraktion der Chloroplasten mit Alkohol das zurückbleibende Gerüst Farbenreaktion von Eiweißkörpern gibt. Nach *Molisch* können Eiweißkörper in Chloroplasten ebenfalls mit den üblichen Reagenzien entdeckt werden[3]). Dasselbe geben auch *Lakon* und *Gertz* an[4]). *A. Meyer* (l. c.) bestätigte die Angaben von *Molisch*, so daß der Eiweißgehalt der Chloroplasten sichergestellt ist. Andererseits lassen sich in den letzteren auch Lipoide nachweisen.

---

[1]) Progressus rei botanicae **3**, H. 1, S. 67, 1909.

[2]) Morpholog. und physiol. Analyse der Zelle **1**, 510, 1920. Vgl. auch Ref. von *A. Pratje* in Biolog. Centrlbl. **4**, 88, 1920.

[3]) *Molisch*, Mikrochemie der Pflanzen 1913, S. 340; Zeitschr. f. Bot. **8**, 131, 1916.

[4]) *Lakon*, diese Zeitschr. **18**, 145, 1916; *Gertz*, Botanisk Notiser Lund 1917.

So konnte z. B. *Biedermann*[1]) diese Stoffe in Chromatophoren durch Schwärzung mit Osmiumsäure und auf anderem Wege nachweisen. Meine Versuche an Spirogyra zeigten, daß nach der Abtötung der Alge ihre Chloroplasten sehr gut mit Sudanfarbstoff gefärbt werden. Eine bedeutende Menge der Lipoide in den Chloroplasten kann auch durch den folgenden Versuch nachgewiesen werden.

Wasser eines Präparats von Spirogyra wird durch gesättigte Lösung von Äther in Wasser ersetzt, und nach dem Auflegen eines Deckgläschens wird das letztere an den Rändern mit Paraffin gedichtet. Nach einigen Stunden treten aus den Chloroplasten des abgetöteten Spirogyra kugelige Tropfen einer öligen Flüssigkeit, die durch Chlorophyll grün gefärbt ist. Äther löst sich offenbar in Lipoiden der Chloroplasten, sammelt sich in ihnen und vergrößert das Volumen der Lipoidphase, die zusammenfließt und aus den Chloroplasten heraustritt. Chlorophyll löst sich dabei in ihr, weil er nicht nur in Lipoiden, sondern auch in Äther gut löslich ist.

Lipoide werden, nach *Czapek*, in Chloroplasten am besten auch durch Sudan III, gemischt mit Amylenhydrat und Pyridin, nachgewiesen[2]).

Man kann also annehmen, daß die Hauptbestandteile der Chloroplasten aus Eiweißkörpern und Lipoiden besteht. Ob aber diese Eiweißkörper Proteide sind, kann selbstverständlich nur durch chemische Analyse der Chloroplasten entschieden werden.

Wir kommen also zu dem Schluß, daß die organischen Produkte der chemischen Zersetzung der lebenden Materie durch schwach angreifende Reagenzien im allgemeinen ausschließlich oder wenigstens hauptsächlich aus Eiweißkörpern und Lipoiden bestehen. Unter Eiweißkörpern verstehen wir Proteide oder Proteine, unter Lipoiden Fette, Phosphatide und Sterine.

5. Chemische Zusammensetzung der lebenden Materie.

Da die lebende Materie unter Einwirkung der zur chemischen Analyse verwendeten Reagenzien abstirbt, so kann ihr chemischer Bau nur durch mildere physikalische Methoden erforscht werden. In meinen vor mehr als 10 Jahren publizierten Arbeiten[3]) habe ich schon darauf hingewiesen, daß diese Methoden uns den Unterschied zwischen der chemischen Zusammensetzung des lebenden und toten Protoplasmas auf das deutlichste zeigen.

Diese Methoden sind: Bestimmung der Permeabilitätsänderungen des Protoplasmas unter Einwirkung verschiedener Reagenzien, Vitalfärbung, Studium der Giftwirkung, Aggregatsänderung und Veränderung des mikroskopischen Aussehens des Protoplasmas beim Absterben.

---

[1]) *Biedermann*, Flora **11/12**, 1918 N.F.; **13**, H. 1/2, 1919.

[2]) *F. Czapek*, Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **27**, 212, 1920.

[3]) Ebendaselbst **28**, 91 und 383, 1910; **29**, 255. 349, 1911; **30**, 528, 1912; Kolloid-Zeitschr. 1913.

Bekanntlich verliert das Protoplasma nach dem Absterben seine selektive Permeabilität. Besonders demonstrativ ist diese Erscheinung an den Pflanzenzellen zu sehen, in denen nach dem Tode keine Plasmolyse möglich ist. Wasserlösliche Substanzen, deren Diffusion vom lebenden Protoplasma in hohem Grade gehemmt wird, diffundieren durch das tote Protoplasma rasch hindurch.

Das Absterben kann bekanntlich auch durch die Reagenzien hervorgerufen werden, die unter den Bausteinen des Protoplasmas nur Eiweißkörper chemisch verändern können, so z. B. durch schwache Sublimatlösungen, die auf Lipoide gar nicht einwirken. Außerdem wird das wasserhaltige Protoplasma schon durch eine verhältnismäßig schwache Temperaturerhöhung getötet, die Lipoide unverändert läßt und doch für die chemische Veränderung der Eiweißkörper (Denaturation) ausreicht[1]).

Andererseits sind Eiweißkörper nicht imstande, die Diffusion von Zucker und Salzen zu verhindern, weil sie diese Substanzen lösen und Salze sogar so festhalten, daß die Reste derselben durch Dialyse nicht entfernt werden können. Man hat also anzunehmen, daß die selektive Permeabilität des lebenden Protoplasmas durch Lipoide bedingt wird.

Diese Annahme wird bekanntlich dadurch bekräftigt, daß in Lipoiden gut lösliche Stoffe (Narkotica) durch das Protoplasma unvergleichbar schneller als Salze diffundieren. Da aber die selektive Permeabilität bei der chemischen Veränderung der Eiweißkörper vernichtet wird, müssen wir schließen, daß Lipoide sich im lebenden Protoplasma in einer so engen Vereinigung mit Eiweißkörpern befindeh, daß eine schwache chemische Veränderung der letzteren die ersteren in einen Zustand versetzt, in dem sie nicht mehr die Diffusion der Salze und Zucker hindern können.

Daß Lipoide mit Eiweißkörpern im Protoplasma innig vereinigt sind, wird auch dadurch bewiesen, daß die Konzentrationen der Narkotica, welche ausreichen, um die Koagulation einerseits der Protoplasmaeiweißstoffe und andererseits der toten Eiweißkörper hervorzurufen, verschieden sind[2]). Je größer die Löslichkeit des Narkoticums

---

[1]) Darüber, daß die Denaturation der Eiweißkörper eine chemische Veränderung derselben unter Einwirkung von Wasser ist, vgl. meine Aufsätze in Biochem. Journ. 1922 und in Kolloid-Zeitschr. **31**, 4, 6, 1922; **32**, 44 und 100, 1923. Über die Einwirkung der hohen Temperatur auf das Protoplasma vgl. meinen Aufsatz: The constancy of the living Substance in Studies from the Laboratory of Plant Physiology of Charles university in Prague **1**, 1, 1923.

[2]) *W. Lepeschkin*, Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **29**, 259, 1911. Vgl. auch Kolloidchemie des Protoplasmas, S. 151.

in Lipoiden ist, desto kleiner ist seine Konzentration, die bereits eine Koagulation der Protoplasmaeiweißkörper bewirkt, im Vergleich mit der Konzentration desselben Narkoticums, die die Koagulation einer Albuminlösung hervorruft.

Der dritte Beweis der innigen Vereinigung der Eiweißkörper mit Lipoiden im lebenden Protoplasma ist die Vitalfärbung der Zellen. Im allgemeinen kann man annehmen, daß die Grundmasse des lebenden Protoplasmas nur ausnahmsweise bei der Vitalfärbung und nur sehr schwach gefärbt wird. Gewöhnlich bleibt sie aber farblos, obwohl sich einzelne in ihm befindliche Körnchen intensiv färben. Nach dem Absterben färbt sich dagegen die Grundmasse des Protoplasmas nicht schwächer als die Körnchen. Der Versuch, solches Verhalten des Protoplasmas in der Weise zu deuten, daß die Farbstoffe im lebenden Protoplasma zu Leucokörpern reduziert, an bestimmten Orten desselben aber wieder reoxydiert werden, gelang nicht. Diese Erklärung läßt vollkommen unbegreiflich, weshalb tote Körper, die ins Protoplasma gelangen, sich gut färben. Die Versuche an Leucocyten zeigten z. B., daß tote Bakterien, die ins Protoplasma aufgenommen werden, Farbstoffe speichern. Lebende Bakterien aber, die sicher über ein Reduktionsvermögen verfügen, sich zunächst färben, um sich alsdann teilweise zu entfärben[1]).

Andererseits ist bekannt, daß alle Eiweißkörper (sowohl Proteine als auch Proteide) Farbstoffe speichern[2]). Eiweißkörper vermögen auch in Lösungen Farbstoffe festzuhalten (adsorbieren oder chemisch binden), wie die Versuche von *Bechhold* zeigten, der eine durch Methylenblau gefärbte Eiweißlösung durch Gelatinefilter filtrierte und im Filtrat kein Methylenblau fand, obwohl es durch das Filter durchdrang, wenn es allein war.

Wenn die Grundmasse des Protoplasmas bei Vitalfärbung farblos bleibt (und das ist fast immer der Fall), müssen wir annehmen, daß ihre Eiweißkörper nicht frei sind. Da aber die bei Vitalfärbung färbbaren Körnchen nur einen geringen Teil des Protoplasmas ausmachen, haben wir zu schließen, daß das letztere im allgemeinen gewöhnlich keine freie Proteide enthält, die nur Stoffwechselprodukte sind.

Aber auch einige Lipoide, wie z. B. Lecithin, Rohcerebrosin, Wollpech und andere, speichern nach *Loewe* Methylenblau[3]). Andererseits zeigt das

---

[1]) *Haidenhain*, Plasma und Zelle **1**, 462 bis 463.

[2]) Vgl. z. B. *A. Fischer*, Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas 1899.

[3]) *S. Loewe*, Zur physikailschen Chemie der Lipoide. Diese Zeitschr. **127**, 231 bis 240, 1922.

Protoplasma im Ultramikroskop keine Ultramikronen, während diese in Lösungen von Lipoiden, die eine mittlere Stellung zwischen hydrophoben und hydrophilen Kolloiden einnehmen, gut sichtbar sind[1]).

Wir haben also zu schließen, daß nicht nur Proteide, sondern auch z. B. Lecithin im lebenden Protoplasma nur in irgend einer gebundenen Form vorkommt.

Aus diesem Grunde nahm ich in den oben zitierten Arbeiten an, daß Proteide (Eiweißkörper) und Lipoide im lebenden Protoplasma miteinander chemisch verbunden sind. Die Verbindungen der genannten Substanzen sind aber offenbar unbeständig. Sie müssen unter dem Einfluß der chemischen Agenzien, die ihre Bestandteile chemisch angreifen, zerfallen. Aber auch unter dem Einfluß mechanischer Einwirkungen, die das Protoplasma abtöten, müssen sie dem Zerfall anheimfallen[2]). In dieser Beziehung erinnern sie offenbar an manche Sprengstoffe. Manche organischen Molekularbindungen, so z. B. die, welche neuerdings von *Staudinger* beschrieben sind[3]), sind ebenfalls sehr unbeständig und zerfallen unter Einwirkung eines Stoßes zu Bestandteilen. Gerade diese Empfindlichkeit für mechanische Einwirkungen veranlaßte mich zu schließen, daß Proteide und Lipoide im lebenden Protoplasma chemisch verbunden sind und nicht etwa Adsorptionsverbindungen bilden, wie man zunächst voraussetzen konnte. Obwohl auch Adsorptionsverbindungen sicher eine Art chemischer Verbindungen darstellen, zerfallen sie nie unter Einwirkung mechanischer Einflüsse.

In dem Falle, wo einer der chemisch reagierenden Körper unvergleichbar größere Moleküle im Verhältnis zu den Molekülen des anderen Körpers hat, kann offenbar die Molekularverbindung beider Körper kaum aus einer bestimmten Anzahl der Moleküle beider Art bestehen. Da die Moleküle der Proteide unvergleichbar größer sein können, als die Moleküle der Lipoide, könnte man ebenfalls nicht verlangen, daß ihre chemischen Verbindungen aus einer bestimmten Anzahl der Moleküle beider Körper zusammengesetzt wären. Die Anzahl der Lipoidmoleküle kann offenbar bei der Sättigung chemischer Kräfte hundertmal so groß sein, als die der Proteidmoleküle; sie kann aber beim Mangel an Lipoiden so klein werden, daß Lipoid durch chemische Analyse würde nicht nachgewiesen werden können.

Es liegt nichts Unwahrscheinliches in der Annahme, daß Eiweißkörper mit Lipoiden im Protoplasma chemisch verbunden sind, weil ähnliche, aber viel beständigere Verbindungen von Eiweißkörpern mit Phosphatiden überall in den Organismen verbreitet sind. Anders kann

---

[1]) Zusatz von Eiweißkörpern zu Lösungen von Lipoiden in Wasser beeinflußt diese Erscheinung nicht.

[2]) Vgl. meine „Kolloidchemie des Protoplasmas" S. 164 ff.

[3]) *H. Staudinger*, Zeitschr. f. angew. Chem. 1924, Nr. 26, S. 578.

man die Tatsache nicht erklären, daß Äther nur einen Teil der Lipoide aus protoplasmahaltigen Tier- oder Pflanzenobjekten extrahieren kann. Erst nach der Behandlung mit Alkohol und sogar noch einer Hydrolyse mit Säuren läßt sich die ganze Lipoidmenge mit Äther extrahieren[1]).

Wie früher auseinandergesetzt wurde, enthält auch das Plasmodium von Fuligo varians eine sehr beständige Verbindung von Eiweiß mit Phytosterin („Plasmatin"). Eine Reihe von chemischen Verbindungen von Lecithin und Eiweißkörpern wurde von *Liebermann*[2]) aus verschiedenen Organen der Tiere isoliert und von *Mayer* und *Terroine*[3]) auch künstlich erhalten. Weitere Untersuchung der sogenannten Lecithinalbumine wurde von *Galeotti* und *Giampalmo* gemacht[4]). Daß die Verbindungen von Lecithin und Eiweißkörper als Niederschläge in ihren Gemischen (in sauren Lösungen) entstehen, spricht noch nichts darüber, daß sie Adsorptionsverbindungen, aber nicht Molekularverbindungen sind.

Schon *Hoppe-Seyler*[5]) behauptete, daß Ovovitellin und Hämoglobin in roten Blutkörperchen mit Lecithin verbunden sind. Auch Fett im Blute soll zum Teil in einer Form vorhanden sein, in der es durch Äther nicht extrahiert werden kann[6]).

Neuerdings zeigte *Biedermann*[7]), daß das Protoplasma der höheren Pflanzen bei künstlicher Verdauung sich nicht angreifen läßt, wenn es vorher nicht mit Alkohol, Äther und Chloroform extrahiert worden war. Auch *Walter*[8]), der die Verdauung des Plasmodiumprotoplasmas mit Pepsin und Trypsin untersuchte, kam zu dem Schluß, daß das Protoplasma vor der Extraktion mit Alkohol, Äther und Chloroform durch Pepsin und Trypsin nicht angegriffen wird.

Alkohol zerstört die Verbindung von Eiweißkörpern mit Lecithin schon deshalb, weil er Eiweißkörper chemisch verändert[9]).

Bei meinen chemischen Untersuchungen des Plasmodiums habe ich es ohne eine vorherige Extraktion mit Alkohol und Äther einer lange dauernden (3 Wochen) Verdauung durch Pepsin-Salzsäure (1 Proz. Pepsin, 0,4 Proz. HCl)

---

[1]) *Kossel*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **34**, 3240, 1901; *O. Histand*, Entwicklung unserer Kenntnisse über die Phosphatide. Zürich 1906; *Bang*, Chemie der Lipoide 1910.

[2]) *Liebermann*, Pflügers Arch. **50**, 25, 1890; **54**, 585, 1893.

[3]) *Mayer* und *Terroine*, C. r. Acad. de Sc. **143**, 515, 1906; C. r. d. Biol. **61**, 353, 397, 431 und 531, 1906; **62**, 42, 1907.

[4]) *Galeotti* und *Giampalmo*, Kolloid-Zeitschr. **3**, 118, 1908; Arch. di fisiol. **6**, 503, 1908.

[5]) Zitiert nach *Bottazzi*, Handb. d. vgl. Physiol., S. 88.

[6]) *Cohnstein* und *Michaelis*, Pflügers Arch. **65**, 473, 1896; **69**, 76, 1897; *Mansfeld*, ebendaselbst **129**, 46, 63, 1909.

[7]) *Biedermann*, Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. VIII. Ebendaselbst **174**.

[8]) *H. Walter*, diese Zeitschr. **122**, 86, 1921.

[9]) Vgl. meinen Aufsatz in Kolloid-Zeitschr. **22**, 100, 1923.

im frischen Zustande bei 28° C unterworfen, wobei von 7,1960 g Plasmodium, das 88,2 Proz. Wasser enthielt, 0,0799 g unverdauten Rests zurückblieb (getrocknet im Vakuumexsikkator), d. h. 9,4 Proz. des Trockengewichts des Plasmodiums. Dieser Rest bestand aus 0,0442 g Lipoiden und 0,0357 g „Plasmatin", d. h. Lipoproteiden. Bei einer lange dauernden Einwirkung von Pepsin-Salzsäure werden also die meisten Verbindungen von Proteiden und Lipoiden zerlegt, während der Rest (Plasmatin) sich nur durch starke Säuren zerlegen läßt.

Da der größte Teil der Lipoide des toten Plasmodiums direkt durch Äther extrahierbar ist, schloß ich in meinem oben zitierten Aufsatz, daß die meisten Lipoide des toten Plasmodiums frei sind. Nur ein Teil dieser Substanzen außer derjenigen, welche das Plasmatin bilden, schien mir mit Eiweißkörpern verbunden zu sein, weil nach der Hydrolyse mit 5proz. H_2SO_4 während 48 Stunden aus dem Reste nur noch 1,9 Proz. des Trockengewichts des Plasmodiums Lipoide extrahiert werden konnten (l. c., S. 186). Die Angaben von *Biedermann* und *Walter* beziehen sich leider nur auf eine sichtbare Veränderung des Protoplasmas unter der Einwirkung von Enzymen. Eine quantitative Schätzung der Enzymwirkung fehlt in beiden Arbeiten. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß in meinen Versuchen ein Teil der Verbindungen von Lipoiden und Eiweißkörpern schon durch Einwirkung von Äther zerlegt wurde, weil Äther, wenn auch bei weitem nicht so stark, wie Alkohol, aber doch auf Eiweißkörper denaturierend wirkt.

Wir müssen uns also die Sache so vorstellen, daß der größte Teil der Verbindungen von Eiweißkörpern und Lipoiden, welche die Grundmasse des Protoplasmas gemeinsam mit Wasser bilden, schon beim Absterben sich zersetzen und das ganze physikalische System des Protoplasmas zerstören. Ein Teil dieser Verbindungen wird aber möglicherweise erst durch Einwirkung von Äther, Alkohol und Säuren zerlegt.

Wir möchten uns noch eine Weile mit der chemischen Zusammensetzung des lebenden Zellkerns und der lebenden pflanzlichen Chromatophoren beschäftigen. Die beiden genannten Arten der lebenden Materie färben sich bei der Vitalfärbung gewöhnlich nicht. Nach *Fischel*[1]) sollen sich die Kerne überhaupt nur im geschädigten Zustande bei der Vitalfällung färben. Nach meinen Untersuchungen können sich in den Kernen und pflanzlichen Chromatophoren nur einzelne Körnchen bei der Vitalfärbung färben, vorausgesetzt, daß die Kerne vollkommen lebend sind. Die Kerne sind empfindlicher als das Protoplasma, und deshalb kann es vorkommen, daß z. B. Vortizellen ihre Bewegungen in Methylenblaulösungen noch fortsetzen, während der Kern schon gefärbt ist. Ähnlich verhalten sich nach meinen Untersuchungen lebende Chloroplasten. Erst nach dem Absterben lassen sie sich bei der Vitalfärbung färben.

---

[1]) *A. Fischel*, Anatom. Hefte **11**, 1899; **16**, 1901. Artikel in der Enzyklopädie der mikroskopischen Technik **1**, 1903.

Wir können also schließen, daß auch in den lebenden Kernen und pflanzlichen Chromatophoren, Eiweißkörper und Lipoide chemisch verbunden sind. Ähnlich wie im Protoplasma sind die Verbindungen der genannten Substanzen sehr unbeständig. Alle Reagenzien, die Eiweißkörper oder Lipoide in irgend einer Weise chemisch verändern, rufen auch diesmal den Zerfall dieser Verbindungen und das Absterben hervor. Auch mechanische Einwirkungen rufen diesen Zerfall hervor, und sowohl die Kerne als auch pflanzliche Chromatophoren erlangen die Fähigkeit, gefärbt zu werden.

Über die Ausscheidung von intravenös eingeführtem Calcium.

Von

J. Dadlez.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Lwów.)

(Eingegangen am 18. Februar 1926.)

Calciumsalze sind in der Therapie schon sehr lange im Gebrauch, und seitdem dieses Mittel zum ersten Male versucht wurde, verbreitete sich seine Anwendung bei verschiedenen Krankheiten als Prophylacticum oder Therapeuticum ungemein, und zwar in mannigfacher Gestalt; innerlich verabreicht als Chlorid, Carbonat, Lactat, Bromid, Phosphat, äußerlich in Verbindung mit anderen Präparaten, schließlich auch als Calciumchlorid in Form von intravenösen Injektionen. Tatsächlich ist es gelungen, an einer ganzen Reihe pathologischer Zustände die günstige Wirkung des Calciums zu beobachten, sogar in Fällen von Lungentuberkulose, wo große Dosen von Calciumchlorid serienweise injiziert wurden, bis vor kurzem von der Vorstellung getragen, daß man auf diese Weise den Prozeß der Calcifizierung der Krankheitsherde werde beschleunigen können, um so mehr, als die selbständige Ausheilung der Tuberkulose öfters von einer Verkalkung der Krankheitsherde begleitet wird. Es ist also nicht verwunderlich, daß die Wirkungsweise von Calcium zahlreichen Untersuchungen unterworfen wurde. In letzter Zeit beschäftigte man sich mit der Frage der Zurückhaltung künstlich eingeführter Kalksalze, und zwar, ob eine reichliche Kalkzufuhr eine Zurückhaltung desselben im Organismus hervorrufen kann und ob das außerhalb der Nahrung in großen Mengen eingeführte Calcium — innerlich als Lactat oder intravenös als Chlorid — ausgeschieden wird oder nicht, eventuell wie lange? Man bemühte sich, die behandelte Frage auf verschiedene Art zu lösen, indem man bei Menschen und Tieren Calcium innerlich verabreichte oder subkutan und intravenös injizierte. Da nun die intravenöse Einführung sicherlich in kürzester Zeit eine Kalksättigung des Organismus hervorruft, weil doch das Calcium in diesem Falle unmittelbar in den Blutkreislauf gelangt, so werde ich mich bemühen, hauptsächlich die Frage nach

dem Schicksal der intravenösen Injektionen von $CaCl_2$ zu behandeln, um so mehr, als eben diese Art heute in der Therapie weit verbreitet ist.

Was geschieht mit dem in das Venenblut gebrachten Calcium, wohin gelangt es? Wird es vollkommen im Harn und Kote ausgeschieden oder wird es teilweise in den Organen, eventuell in den Knochen, abgelagert.

Eine Reihe von Autoren gelangte durch Blutanalysen bei den Tieren (*Heubner* und *Rona*, *Clark*, *Fenyvesse* und *Freund*) und Menschen (*Billigheimer*, *Sieburg* und *Kessler*, *Trillet*, *Hetényi*) zu dem Beweis, daß der Blutkalkspiegel in ungefähr 2 bis 3 Stunden nach intravenöser Injektion von Kalksalzen zur Norm zurückkehrt. Andererseits wurden schon früher Organanalysen angestellt (*Kost*), sowie in neuerer Zeit von *Heubner* und *Rona*, *Hecht*, *Jungmann* und *Samter*. *Heubner* und *Rona* gelangten nach Untersuchungen, die eine besondere Beachtung verdienen, zu der Überzeugung, daß der normale Kalkgehalt innerhalb weiter Grenzen variiert, und konnten trotz intravenöser Einführung großer Calciumdosen irgendwelche Änderungen in den Organen nicht bemerken, mit Ausnahme der Niere, wo es möglich ist, bei akuter Vergiftung einen Überschuß an Calcium festzustellen. In späteren Arbeiten zeigte *Heubner* bei akuter Vergiftung eine Zunahme des Kalkgehalts im Klein- und Mittelhirn, wobei er der analogen Resultate gedachte, zu denen *Jungmann* und *Samter* gelangten. Es muß bemerkt werden, daß die Organe in 3 bis 6 Stunden nach der Injektion untersucht wurden, und daß diese Erscheinung bei großen, toxischen Dosen beobachtet wurde. Da nun der Kalk in Niere und Hirn bei akuter Vergiftung nur in kleinen Mengen abgelagert wird, während andere Organe ein Abweichen von der Norm nicht zeigen, so dachten *Heubner* und *Rona* an die Möglichkeit der Zurückhaltung des Calciums in den Knochen, mit dem Vorbehalte einer eventuellen Kotanalyse, um die Ausscheidung auf diesem Wege auszuschließen. Da die bisherigen Arbeiten kein zweifelloses Bild über das Schicksal des intravenös eingeführten Kalkes lieferten, versuchte *Hetényi*, indem er zwei Kaninchen Calciumchlorid in das Blut einführte, die in Rede stehende Frage zu lösen; nach 3 Stunden tötete er eines der Tiere, entnahm aus der Blase den Harn, aus dem Rectum den Kot, und prüfte beide. Durch Vergleiche mit dem Kontrollkaninchen gelangte er zu dem Schluß, daß im Mittel 15,6 Proz. Calcium im Verhältnis zur ursprünglichen Dosis ausgeschieden wurden. Derselbe Autor nahm intravenöse Kalkinjektionen an 20 Personen vor und zeigte, auf Blut- und Harnanalysen gestützt, daß der Kalkgehalt des Blutes nach 3 Stunden normal ist, und daß in derselben Zeit von 260 mg injizierten Calciums durch die Nieren 35 mg ausgeschieden wurden. Durch Vergleich mit dem Tierversuch glaubt er eine Ausscheidung im Kote auf höchstens 90 mg anschlagen zu dürfen; im ganzen blieben also von der injizierten Dosis 50 Proz. oder 130 mg im Organismus zurück. Nach Verlauf von 3 Stunden wird demnach ein Zustand erreicht, in dem der Blutkalk normal ist, die Weichteile nicht kalkreicher sind als sonst (bei Dosen, die eine Vergiftung noch nicht hervorgerufen), während im Harn und Kote bloß 50 Proz. zur Ausscheidung gelangten. Um sich davon zu überzeugen, was mit dem restlichen Calcium geschieht, amputiert *Hetényi* zwei Kaninchen vor der Injektion die linke hintere Extremität, nach der intravenösen Injektion einer tödlichen Dosis die rechte hintere Extremität, prüft den Kalkgehalt in den Knochen und gelangt, nachdem es ihm gelungen war,

auf diese Weise einen kleinen Kalküberschuß in der amputierten Extremität nach der Injektion festzustellen zu der Folgerung, daß die Knochen eine bedeutende Rolle in der Calciumzurückhaltung im Organismus spielen.

Es erhebt sich aber die Frage, ob die Zurückhaltung des Calciums eine beständige ist oder nur eine temporäre, weil die Möglichkeit vorhanden ist, daß in weiteren Stunden der zurückgehaltene Rest im Harn und Kote ausgeschieden wird. Deshalb bemühte ich mich, eine Calciumbilanz nach Calciumchloridinjektionen bei Kaninchen und Menschen aufzustellen. Zu diesem Zwecke wählte ich einen tuberkulösen Kranken, erstens weil bei solchen Kranken ohnehin Calcium appliziert wird, und zweitens, um sich zu überzeugen, ob bei der Tuberkulose von einer Ablagerung des künstlich eingeführten Calciums die Rede sein kann und ob wir in ihr die Ursache einer mehrmals beobachteten Besserung erblicken dürfen.

Es soll noch erwähnt werden, daß analog den von *Heubner* und *Rona* in großem Maßstab durchgeführten Arbeiten bei Katzen, auch von *Mary Maver* und *Gideon Wells* Organe von Meerschweinchen und Mäusen analysiert wurden mit dem Ergebnis, daß auf dem Wege einer Kalkzufuhr eine Vergrößerung des Kalkgehalts in den Organen nicht zu erreichen ist, mit Ausnahme vielleicht der Niere als ausscheidendem Organ. Die Anhäufung des Calciums im tuberkulösen Gewebe des Scrotum von Mereschweinchen ist dagegen unabhängig von der Calciumdarreichung; daher gelangen die Autoren zu dem Schluß, daß das bei Tuberkulose eingeführte Calcium in den Geweben nicht aufgenommen wird.

Den Calciumstoffwechsel bestimmte ich beim Kaninchen auf die Weise, daß das Tier zuerst 7 Tage bei derselben Diät blieb, nach 7 Tagen sammelte ich seinen Harn und Kot, während gleichzeitig eine Analyse der gebotenen Nahrung angestellt wurde; nach weiteren 6 Tagen injizierte ich Calcium intravenös. Zur Aufstellung der Calciumbilanz beim Menschen wählte ich einen intelligenten tuberkulösen Kranken, welcher gern in die Durchführung des Versuchs einwilligte und, wie ich mich mehrmals überzeugen konnte, die Menge der täglichen Nahrung genau abmaß und abwog, die Exkremente dagegen in den überlassenen Gefäßen peinlich sammelte.

Methodik.

A. Kotanalysen wurden auf die Weise ausgeführt, daß der während 3 Tagen gesammelte Kot mit Alkohol verrieben wurde, auf einem Wasserbad bis zur Trockne abgedampft, genau gepulvert und abgewogen wurde. Von den abgewogenen Mengen wurden 2 g im Platintiegel verbrannt und die Asche in Salzsäure gelöst. Nach Befreiung der Lösung von Phosphaten mit Eisenchlorid wurde das Calcium bei schwach saurer Reaktion durch Ammoniumoxalat gefällt. Nachher wurde der Niederschlag durch ein

gehärtetes Filter filtriert und der Calciumgehalt entweder durch Abwägen oder öfters durch hypermangansaures Kalium bestimmt, wobei das Filter mehrere Male mit Wasser bespült wurde, um eine vollkommene Entfernung der Oxalsäurereste zu erreichen. Ähnlich bin ich mit der Bestimmung des Calciums in der Nahrung verfahren, indem ich in einem Platintiegel 2 g frischer Substanz verbrannte, Phosphate, wenn sie in größerer Zahl auftraten, mittels Eisen entfernte, während dort, wo geringere Mengen vermutet wurden, das Calcium unmittelbar in gelöster Asche in Anwesenheit von Essigsäure gefällt wurde, nach vorheriger Neutralisation der Salzsäure mit Ammoniak.

B. Die tägliche Harnmenge wurde bis zu einem bestimmten Volumen verdünnt, 100 ccm durch Ammoniak stark alkalisiert und nach 24 Stunden der Niederschlag auf einem Filter nach vorheriger Auswaschung mit Ammoniak in Salzsäure im Warmen gelöst. In der so erhaltenen Flüssigkeit wurde das Calcium bestimmt, im Menschenharn unmittelbar, im Kaninchenharn dagegen nachdem erst die Phosphate durch Eisen entfernt worden waren. Manchmal habe ich denselben Harn mit und ohne Phosphate geprüft, um sicher zu sein, daß die längere Prozedur, welche durch die Anwendung von Eisenchlorid verursacht wird, auf das Ergebnis der Analyse ohne Einfluß bleibt. Es wurden wenigstens zwei Kontrollanalysen des Kotes und des Harns angestellt.

C. Das Blut prüfte ich nach der von *de Waard* angegebenen Methode mit dem Unterschied, daß ich mich der Zentrifuge meistens nicht bediente, sondern den Niederschlag auf einem gehärteten Filter von 4 cm Durchmesser sammelte und nach peinlicher Abspülung mit n/100 $KMnO_4$ titrierte, wobei ich von dem Ratschlag des Autors Gebrauch machte, welcher empfiehlt, von dem Kontrollwasser eine solche Menge übermangansaures Kalium abzuziehen, wie notwendig ist, um eine Färbung hervorzurufen.

D. Das zu intravenösen Injektionen verwendete Calciumchlorid war aus 15proz. $CaCl_2 . 6 H_2O$ Lösung angefertigt; die Analyse ergab in 1 ccm dieser Lösung 0,03 g Calcium.

I.

Die zum Versuch verwendete Nahrung wurde auf Calcium analysiert. Das in den Tabellen ersichtliche Ergebnis der Analysen gestattet zu ersehen, wieviel Gramm Calcium die aufgenommene

Tabelle I.

Nahrung	Die Ca-Menge in 100 g frischer Substanz bzw. in 100 ccm Flüssigkeit g	Nahrung	Die Ca-Menge in 100 g frischer Substanz bzw. in 100 ccm Flüssigkeit g
Rindfleisch	0,010	Butter	0,017
Schweinefleisch . . .	0,038	Wasser	0,0065
Kalbfleisch	0,0096	Milch	0,130
Roggenbrot	0,027	Bier, Porter (Lwów)	0,0074
Weizenmehl	0,031	Saure Gurke	0,041
Kartoffeln	0,005	Weichsel-Konfitüre .	0,013
Eier	0,060	Hafer	0,230
1 Ei (Gewicht 43 g) .	0,026	Rote Rüben	0,039

Nahrung auf 100 g frischer Substanz oder 100 ccm Wasser, Bier, Milch enthält; die Zahlen stellen ein Mittel von zwei bis vier Analysen dar.

Was die Calciummenge in hier nicht angeführter Nahrung betrifft, so bediente ich mich der im Werke *Königs* angeführten Analysen.

II.

Ein Kaninchen, männlich, Gewicht 2600 g, das in einem Stoffwechselkäfig gehalten wurde, erhielt als Nahrung Hafer und rote Rüben; nach einigen Tagen wurde der Harn und der Kot gesammelt und gleichzeitig die Menge der verzehrten Nahrung gemessen. Am vierten Tage erhielt das Tier eine intravenöse Injektion von 5 ccm 15proz. $CaCl_2$ = 0,15 g Ca, am achten Tage 4 ccm 15proz. $CaCl_2$ = 0,12 g Ca.

Tabelle II.

Kaninchen ♂ Gewicht 2,6 kg.

Tag	Die Ca-Menge in der Nahrung g	Die intravenös injizierte Ca-Menge	Die Totalmenge des eingeführten Ca g	Die Ca-Menge im Harn g	Die Ca-Menge im Kote g	Die Totalmenge des ausgeschiedenen Ca g	Bilanz g
20. IV.	0,242						
21. IV.	0,285		0,781	0,172	0,376	0,767	+ 0,014
22. IV.	0,254			0,219			
23. IV.	0,139	5 ccm 15proz. $CaCl_2$ = 0,15 g Ca		0,382	0,280		
24. IV.	0,193		0,952			0,972	— 0,020
25. IV.	0,208			0,100	0,210		
26. IV.	0,262						
27. IV.	0,278	4 ccm 15proz. $CaCl_2$ = 0,12 g Ca					
28. IV.	0,294		0,973	0,360	0,632	0,992	— 0,019
29. IV.	0,281						
Summe			2,706			2,731	— 0,025

In Summa wurden 0,27 g Calcium injiziert; zusammen mit der Nahrung wurden 2,706 g Calcium eingeführt. Wenn nun 50 Proz. des intravenös eingebrachten Calciums im Organismus verbleiben würden, so müßte die Menge des ausgeschiedenen Calciums ungefähr 2,601 g betragen; wenn nur 30 Proz. irgendwo zur Ablagerung gelangen würden, dann könnte man dies auch bemerken, denn die ausgeschiedene Calciummenge stünde in diesem Falle um 2,650 g herum, was in der Totalbilanz z. B. durch die Zahlen + 60 mg, + 70 mg angedeutet wäre. Analog würde sich die Sache mit den Tagesbilanzen verhalten. Wir sehen aber, daß die Bilanzen in folgenden Grenzen variieren: + 14 mg, — 20 mg, — 19 mg, was in Summa — 25 mg ergibt. In diesem Falle kam also die ganze Menge des injizierten Calciums zur Ausscheidung.

III.

Bei einem Kranken, an welchem der Versuch angestellt wurde, wurde eine Lungenspitzenaffektion festgestellt (verschärftes alveolares Atmen und einige Rasselgeräusche), im Sputum *Koch*sche Bazillen. Der Kranke wußte, daß es sich um eine genaue Zusammenstellung des aufgenommenen und ausgeschiedenen Calciums handelt, und erklärte selbst, daß ihm das Sammeln des Kotes keine Schwierigkeiten bereiten werde, da er bloß einmal am Morgen Stuhl hätte. Anfänglich nahm er es mit der Aufzeichnung der verzehrten Nahrung nicht so genau, nach einigen Tagen gewöhnte er sich aber daran, seine Aufmerksamkeit sogar auf die geringste Menge Nahrung, was Quantum und Qualität betrifft, zu lenken. Nach einer Woche konnte ich mit dem Versuch beginnen und stelle nun das Ergebnis in beigefügter Tabelle zusammen. Am 7. Tage wurden intravenös 8,5 ccm 15proz. $CaCl_2 = 0{,}255$ g Calcium, am 10. Tage 10 ccm 15proz. $CaCl_2 = 0{,}3$ g Calcium injiziert.

Tabelle III.

Tag	Die Ca-Menge in der Nahrung g	Die intravenös injizierte Ca-Menge	Die Totalmenge des eingeführten Ca g	Die Ca-Menge im Harn g	Die Ca-Menge im Kote g	Die Totalmenge des ausgeschiedenen Ca g	Bilanz g
11. XI.	1,324						
12. XI.	1,345		3,800	0,477	3,028	3,505	+ 0,295
13. XI.	1,131						
14. XI.	2,196			0,147			
15. XI.			3,983	0,138	3,800	4,269	— 0,286
16. XI.	1,787			0,184			
17. XI.	1,525	8,5 ccm 15proz. $CaCl_2$ = 0,255 g Ca		0,263			
18. XI.	1,483		4,634	0,327	4,040	4,630	+ 0,004
19. XI.	1,371						
20. XI.	0,928	10 ccm 15proz. $CaCl_2$ = 0,3 g Ca		0,255			
21. XI.	1,067		2,846	0,390	2,190	2,835	+ 0,011
22. XI.	0,551						
Summe			15,263			15,239	+ 0,024

Vor allem möchte ich die Aufmerksamkeit auf die Bilanz der ersten 6 Tage richten. Die ersten 3 Tage weisen + 295 mg Calcium auf, die folgenden 3 Tage — 286 mg Calcium, in Summa + 9 mg Calcium, was höchstwahrscheinlich auf ein Zurückbleiben der Nahrungsreste aus den ersten 3 Tagen im Kote zurückzuführen ist, welche Reste ihren Einfluß in der negativen Bilanz der letzten 3 Tage ihren Ausdruck finden. In Summa wurden intravenös 0,555 g Calcium eingeführt. Wenn nun 50 Proz. dieser Menge im Organismus zurückbleiben würden,

dann hätten wir eine allgemeine Bilanz von ungefähr + 274 mg Calcium; wenn auch nur 20 Proz. aufgehalten wären, dann könnte man dies feststellen, denn in diesem Falle müßte die Bilanz + 130 mg Calcium aufweisen. Nun bewegt sich aber das Ergebnis in folgenden Grenzen: + 9 mg, + 4 mg, + 11 mg, in Summa + 24 mg. Wenn wir dazu noch den Harn berücksichtigen und die Zahlen der täglichen Calciumausscheidung zusammenstellen, dann bemerken wir, daß sich am Tage der Injektion immer ein kleiner Überschuß von 0,1 bis 0,08 g Calcium bemerkbar macht, was dafür spricht, daß im Harn ein Drittel des intravenös eingeführten Calciums ausgeschieden wurde, während der Rest (zwei Drittel) im Kote zur Ausscheidung gelangte. Dieses Ausscheidungsverhältnis des intravenös eingeführten Calciums auf dem Wege der Nieren und des Darmes gibt auch *Hetényi* an, auf Grund von Experimenten bei Kaninchen und Harnanalysen bei Menschen.

Tabelle IV.

Harn.

Tag	Die Ca_2-Menge im Harn g	Tag	Die Ca_2-Menge im Harn g	Tag	Die Ca_2-Menge im Harn g	Tag	Die Ca_2-Menge im Harn g
11. XI.	0,159	14. XI.	0,147	17. XI.	0,263	20. XI.	0,255
12. XI.	0,159	15. XI.	0,138	18. XI.	0,163	21. XI.	0,195
13. XI.	0,159	16. XI.	0,184	19. XI.	0,164	22. XI.	0,195

Die Zahlen vom 21. und 22., vom 18. und 19., vom 11., 12. und 13. November stellen ein in diesen Tagen gewonnenes Mittel dar. Auch füge ich eine Tabelle bei, welche die Nahrung am 20., 21. und 22. November angibt, als Beispiel für die Ernährungsweise des Kranken, dem in dieser Hinsicht vollkommene Freiheit überlassen wurde (Tab. V).

IV.

Die Versuche ergänzend wollte ich mich noch überzeugen, ob das Blut bei tuberkulösen Individuen nach einer Reihe von intravenösen Calciuminjektionen einen Calciumüberschuß aufweisen wird, und wie schnell das Blutbild zur Norm zurückkehren wird. Den Calciumgehalt des Blutserums stellte ich vor der Injektion, in verschiedener Zeit nach der Injektion und nach mehreren Injektionen fest.

Der Kranke A:

a) vor der Injektion . . . . . 10,2 mg Ca,
b) 20 Minuten nach der Injektion, 10 ccm 15proz. $CaCl_2 . 6 H_2O$ . . . . . 14,4 „ Ca,
c) 180 Minuten nach der Injektion (Menge und Lösung wie bei b) . . . . . 10,6 „ Ca

auf 100 ccm Blut.

Tabelle V.

Die Nahrung am 20. XI.	Die Nahrungsmenge am 20. XI.	Die Ca-Menge in der Nahrung am 20. XI. g	Die Nahrung am 21. XI.	Die Nahrungsmenge am 21. XI.	Die Ca-Menge in der Nahrung am 21. XI. g	Die Nahrung am 22. XI.	Die Nahrungsmenge am 22. XI.	Die Ca-Menge in der Nahrung am 22. XI. g
Milch	500 ccm	0,650	Milch	700 ccm	0,910	Milch	200 ccm	0,260
Wasser	950 „	0,061	Wasser	500 „	0,032	Wasser	600 „	0,039
Rindfleisch . .	80 g	0,008	Schweinefleisch .	140 g	0,053	Bier, Porter (Lwów) .	500 „	0,037
Eier	172 g	0,104	Kartoffeln . . .	220 g	0,011	Rindfleisch . . .	160 g	0,016
Butter	50 g	0,008	Reis	100 g	0,012	Reis	70 g	0,008
Brot	60 g	0,016	Butter	40 g	0,006	Weizenmehl . . .	140 g	0,043
Kartoffeln . .	150 g	0,007	Brot	60 g	0,016	Zucker	50 g	—
Reis	50 g	0,006	Zucker	10 g	—	Butter	40 g	0,006
Zucker	100 g	—	Eier	43 g	0,026	Schweinefleisch .	80 g	0,030
Weizenmehl . .	220 g	0,068	Honig	30 g	0,001	Eier	43 g	0,026
						Saure Gurke . .	210 g	0,086
Summe	—	0,928	Summe	—	1,067	Summe	—	0,551

Derselbe Kranke erhielt nachher in zweitägigen Zwischenräumen à 10 ccm Calciumchlorid intravenös, worauf die elfte Injektion berücksichtigt wurde:

a) vor der elften Injektion . . . . . 8,5 mg Ca,
b) 20 Minuten nach der Injektion . . . . . 11,05 „ Ca,
c) 120 Minuten nach der Injektion. . . . . 8,35 „ Ca

auf 100 ccm Blut.

Der Kranke B bekam vor dem Versuch 15 intravenöse Calciumchloridinjektionen. Die 16. Injektion wurde berücksichtigt:

a) vor der 16. Injektion . . . . . 9,2 mg Ca,
b) 20 Minuten nach der Injektion . . . . . 13,7 „ Ca,
c) 120 „ „ „ . . . . . 8,5 „ Ca

auf 100 ccm Blut.

Der Kranke C:

a) vor der Injektion . . . . . 6,9 mg Ca,
b) 20 Minuten nach der Injektion. . . . . 10,2 „ Ca,
c) 120 „ „ „ „ . . . . . 7,1 „ Ca

auf 100 ccm Blut.

Es wurden immer à 10 ccm 15proz. $CaCl_2 . 6 H_2O$ injiziert.

Aus obiger Zusammenstellung geht hervor, daß das intravenös injizierte Calcium bei den Tuberkulösen ebenso rasch aus dem Blute schwindet wie bei Gesunden, ohne Rücksicht auf die Anzahl der vorhergehenden Injektionen. Ein ähnlicher Effekt stellt sich nach der ersten und zweiten Injektion ein, und wie aus der oben beigefügten Calciumbilanz des Tuberkulösen ersichtlich, wird das injizierte Calcium vollständig ausgeschieden. Da nun nach der zehnten Injektion das Blutbild ebenso rasch zur Norm zurückkehrt wie nach der ersten, so könnte man annehmen, daß die nach der zehnten Injektion aufgestellte Bilanz zeigen würde, daß das künstlich eingeführte Calcium vollkommen ausgeschieden wird, oder daß es nicht möglich ist, trotz einer langen Reihe von Injektionen eine Calciumablagerung im tuberkulösen Organismus zu erreichen.

V.

Zum Schluß möchte ich noch die Aufmerksamkeit auf den Versuch *Heténys* lenken, welcher zeigt, daß das Calcium bloß in einer Menge von 50 Proz. binnen 3 Stunden nach intravenöser Darreichung ausgeschieden wird. Von der Richtigkeit dieser Anschauung überzeugte ich mich durch Harnanalysen bei einigen Kranken; das Calcium schwindet aus dem Blute, wird im Organismus, vielleicht in den Knochen und im Kleinhirn deponiert, jedoch nur zeitweilig, weil noch nach 6 Stunden eine übernormale Menge Calcium im Harn nachweisbar ist.

Das alles spricht für ein fortwährendes Schwinden der Calciumreste aus dem Organismus auf dem Wege der Nieren und des Darmes, bis eine vollkommene, nach 24 Stunden feststellbare Ausscheidung des intravenös eingeführten Calciums erreicht ist.

Literatur.

1) *Heubner* und *Rona*, diese Zeitschr. **135**, 248, 1923. — 2) *Hecht*, ebendaselbst **144**, 270, 1924. — 3) *Jungmann* und *Samter*, ebendaselbst **144**, 265, 1924. — 4) *Hetényi*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **43**, 131, 1924. — 5) *Mary Maver* and *Gideon Welis*, Amer. rev. of tubercul. **7**, Nr. 1, S. 1, 1923, zitiert nach Ber. f. d. ges. Physiol. u. exp. Pharm. **21**, 309. — 6) *de Waard*, diese Zeitschr. **97**, 176, 1919. — 7) *J. König*, Chemie der menschlichen Nahrungs- u. Genußmittel (4. Aufl., Berlin, Julius Springer).

Studium der Eiweißkörperkoagulation in Tropfen.

VIII. Mitteilung:

Unterschiede in der Koagulation des reinen und Hb-Serums des Pferdes, Rindes, Schweines und Hundes.

Von

St. Reiner, F. Pluhař und B. Hányš.

(Aus dem chemischen Institut der tierärztlichen Hochschule in Brno, Tschechoslowakei.)

(Eingegangen am 18. Februar 1926.)

Aus den Resultaten der bisher veröffentlichten Arbeiten auf dem Gebiet der Eiweißkoagulation mittels der *Bečka*schen Tropfenmethode sind gewisse Regelmäßigkeiten ersichtlich. In vorliegender Arbeit wurde das reine und das Hämoglobin-Blutserum (Hb-Serum) von Pferd, Rind, Schwein und Hund untersucht. Um die Resultate möglichst gleichartig (eindeutig) zusammenzustellen und den Vergleich der Versuchsergebnisse zu ermöglichen, wurden im Gegensatz zu den früheren Arbeiten (Untersuchung des Normalserums mit vollem Eiweißkörpergehalt) die einzelnen Seren immer auf 1 Proz. Eiweiß verdünnt; die Fällungsmittel hatten eine Konzentration von m/10.

Die Aufgaben dieser Arbeit sind also:

Untersuchung der Seren von einzelnen Tiergattungen bei derselben Eiweißkonzentration, wodurch die Eiweißunterschiede zum Ausdruck kommen sollen.

Die Sicherstellung der Fällungsunterschiede von reinem und Hämoglobinserum (Hb-Serum); bei letzterem konnte der Einfluß des Hämoglobins mit seinen Derivaten, welche beim Verdünnen des Blutes durch destilliertes Wasser in die Lösung kommen, studiert werden.

Zuletzt wurden auch noch einige bisher nicht benutzte Fällungsmittel ausprobiert, um ihre spezifischen Fällungseigenschaften zu konstatieren.

Experimenteller Teil.

Die Prozente der gesamten Eiweißkörper wurden durch die Formolzahl (*Steineggers* Methode) bestimmt; es ergaben sich beim Serum übereinstimmende Resultate mit der refraktometrischen Methode.

Als Fällungsmittel wurden m/10 Lösungen folgender 23 Chemikalien benutzt: $CuSO_4$, $Fe_2(SO_4)_3$, $FeSO_4$, $KAl(SO_4)_2$, $KCr(SO_4)_2$, $HgCl_2$, $FeCl_3$, $Cd(NO_3)_2$, HNO_3, $H_7P(W_2O_7)_2$, C_6H_5OH, $C_6H_4(OH)_2$, $C_6H_3(OH)_3$, Tannin m/2,9, $HOC_6H_2(NO_2)_3$, $C_6H_3SO_3HOH.COOH$, CH_2ClCO_2H, CCl_3CO_2H, $CH_3CH.OH.COOH$, CH_3COH, $CCl_3CH(OH)_2$, C_2H_5OH und das bei dieser Methode noch nicht angewandte $AgNO_3$.

Als Verdünnungsmittel wurde immer destilliertes Wasser gebraucht.

Um die Resultate leichter vergleichen zu können, nahmen wir als Grundkoagulationszahl die Ergebnisse beim Fällen des 1proz. Serums durch Fällungsmittel in der m/10 Lösung. *Reiner* studierte die Unterschiede zwischen dem reinen und Hämoglobinserum beim Pferde, *Pluhař* beim Schweine- und Hunde- und *Hányš* beim Rinderserum. In den folgenden Kapiteln und Tabellen geben wir die Resultate unserer Versuche wieder.

Von den anorganischen Fällungsmitteln bewirkt $HgCl_2$ sowohl bei reinem als auch bei Hämoglobinserum konstant eine proportionale Erhöhung der Fällungskraft mit dem steigenden Alter der Tiere; eine Ausnahme bildet das Hundeserum. Die Fällungsbilder weisen einen konstanten Typus auf. Bei Seren von alten Pferden bemerkte man eine schwache Variabilität. Die niedrigste Koagulationszahl fand man beim Hundehämoglobinserum, während bei den anderen Tierarten die Koagulation des Hämoglobinserums im Verhältnis zum reinen viel größer war.

$Cd(NO_3)_2$ zeigt einen ähnlichen Typus des Fällungsbildes; auffallend ist die Vergrößerung des gefällten Feldes beim Rinde und die typische Form der Fällungsbilder beim Hunde, welche sich von den Fällungsbildern anderer Tierarten sehr markant unterscheiden. Der Einfluß des Alters auf die Koagulationsfähigkeit prägt sich beim Schweineserum bis zum Alter von 3 Jahren ganz gut aus. Beim Hämoglobinserum vom Pferde, Rinde und Schweine steigt die Fällungsfähigkeit, besonders stark beim Schweine, wo die Koagulationszahl 56 beträgt; beim Hunde bemerkt man dagegen eine auffallende Senkung (Koagulationszahl 36).

Ähnliche Bilder, wie $HgCl_2$ und $Cd(NO_3)_2$ zeigt auch $CuSO_4$. Überaus typisch sind die Bilder beim reinen Rinderserum gegenüber dem Schweinehämoglobinserum. Die größte Fällung weist das reine Schweineserum auf, das dieselbe Koagulationszahl besitzt wie $Cd(NO_3)_2$, und bei welchem auch der Alterseinfluß deutlich ausgeprägt wird. Weiter bemerkt man hier auch eine Erniedrigung der Fällungsfähigkeit des Hämoglobinserums des Hundes gegenüber dem von anderen Tierarten.

Sehr deutlich werden die Serumeiweiße durch die Phosphorwolframsäure koaguliert. Die Fällungsbildertypen sind bei allen Tierarten konstant und übereinstimmend; die größten Unterschiede weist das reine und hämolytische Hundeserum auf. Der Alterseinfluß ist bei diesem Fällungsmittel nicht festzustellen.

Alaune fällen erst in schwächeren Konzentrationen als m/10. Die Fällungstypen sind nicht bedeutend verschieden. Aluminiumalaun besitzt eine stärkere Fällungskraft als Chromalaun. Die Koagulationszahlen beim Hämoglobinserum sind gegen die beim reinen sehr erniedrigt, einige Rinderseren sogar fällte Chromalaun überhaupt nicht. Die Intensität der Trübungen bei beiden Fällungsmitteln ist minimal.

Tabelle I.

Nr.	Art	Alter		Proz. Eiweiß im rein. Serum	p_H	Proz. Eiweiß im Hbserum		$HgCl_2$	$Cd(NO_3)_2$	Sulfosalicylsäure	Phosphorwolframsäure	Gerbsäure
1	Wallach	8 Monate	Gesund Gut gefüttert	6,1632	5,6	4,828 46	R. S.	VII/11 54	VI/11 59	IX/8 43	VII/10 38	IX/11 80
							Hbs.	VI/12 66	VI/12 64	VIII/6 33	VII/11 64	VIII/12 76
2	Stute	1 Jahr	Gesund Gut gefüttert	7,6968	5,4	5,794 152	R. S.	VI/11 55	V/9 42	VII/8 27	V/10 45	IX/8 57
							Hbs.	VII/12 74	VII/12 70	IX/8 43	VI/10 52	IX/10 74
3	Wallach	$1^1/_2$ Jahre	Gesund Gut gefüttert	6,336	5,4	4,335 422	R. S.	VI/11 57	VII/10 54	VIII/8 40	VI/9 44	X/10 76
							Hbs.	VII/11 66	VII/12 63	IX/7 39	VII/10 55	IX/10 67
4	Wallach	9 „	Gesund Gut gefüttert	7,74	6,0	4,345 614	R. S.	VI/12 67	VII/12 65	VII/11 44	VI/10 51	VIII/9 59
							Hbs.	VII/12 80	VII/12 73	VIII/11 47	VIII/12 80	VIII/11 78
5	Wallach	14 „	Gesund Schl. gefüttert	8,064	6,4	7,725 536	R. S.	VII/10 63	VI/9 47	VIII/8 39	VII/9 51	IX/8 64
							Hbs.	VIII/12 84	VIII/12 80	IX/8 46	VII/10 58	IX/9 67
6	Wallach	15 „	Gesund Mittel gefütt.	8,28	5,4	5,311 306	R. S.	VIII/12 83	VI/11 55	VIII/10 43	VI/9 74	VIII/10 70
							Hbs.	VII/12 56	VII/12 69	VIII/12 49	VIII/11 70	IX/11 84
7	Stute	etwa 20 Jahre	Gesund Schl. gefüttert	8,494	5,4	8,691 228	R. S.	IX/10 86	VII/10 62	IX/5 30	IX/10 79	VIII/7 50
							Hbs.	IX/12 90	VIII/12 80	VIII/7 33	VIII/9 71	IX/11 92
8	Stute	etwa 20 Jahre	Gesund Sehr schl. gef.	8,815	6,2	6,276 99	R. S.	VI/10 55	VI/11 52	VII/10 33	VII/10 62	VIII/10 65
							Hbs.	VIII/12 77	VII/12 73	VIII/9 36	VIII/10 70	VIII/11 90
9	Wallach	etwa 20 Jahre	Gesund Schl. gefüttert	8,172	5,6	6,276 99	R. S.	VII/12 71	VII/12 68	VII/10 42	VII/11 63	IX/10 72
							Hbs.	VII/12 71	VI/12 56	VIII/7 32	VII/11 59	IX/11 76
10	Stute	20 Jahre	Gesund Mittel gefütt.	8,494	6,2	5,542 72	R. S.	IX/11 75	VII/11 64	VII/4 17	VII/9 61	VIII/9 64
							Hbs.	VII/12 72	VIII/12 80	VIII/6 35	IX/10 78	X/11 86

Tabelle II.

Nr.	Art	Alter		Proz. Eiweiß im rein. Serum	p_H	Proz. Eiweiß im Hbserum		$HgCl_2$	$Cd(NO_3)_2$	Sulfosalicylsäure	Phosphorwolframsäure	Gerbsäure
1	Kalbin	1 Jahr	Gesund Schl. gefüttert	7,934	6,4	6,759 84	R. S.	VIII/12 83	VII/12 65	VII/10 31	VII/11 60	XII/9 69
							Hbs.	IX/12 70	V/12 49	VII/7 28	VII/9 49	IX/10 73
2	Kalbin	1 „	Gesund Mittel gefütt.	7,5456	6,1	8,208 38	R. S.	VII/11 65	VI/11 60	VI/10 43	VII/9 49	X/9 67
							Hbs.	VII/12 71	VIII/12 80	VIII/7 33	IX/10 69	IX/9 72
3	Kalbin	1 „	Gesund Gut gefüttert	6,876	5,4	7,800 432	R. S.	VII/11 65	VI/10 47	VIII/10 53	VII/9 51	X/8 62
							Hbs.	VIII/12 79	VI/12 64	VIII/12 54	VIII/12 75	IX/11 85
4	Kalbin	$1^1/_2$ Jahre	Gesund Schl. gefüttert	6,336	6,0	8,691 22	R. S.	VII/10 58	VI/10 55	X/7 49	VI/8 40	VIII/8 55
							Hbs.	VIII/12 66	VI/9 45	IX/8 37	IX/10 74	X/10 74
5	Kalbin	2 „	Gesund Gut gefüttert	8,494	5,6	5,958 65	R. S.	VII/11 66	VI/11 54	VIII/10 49	IX/10 67	VIII/9 58
							Hbs.	VIII/12 83	VII/12 69	VII/12 51	IX/12 87	IX/12 84
6	Kuh	$2^1/_2$ „	Gesund Sehr gut gef.	8,454	5,6	5,3112	R. S.	VI/9 48	V/10 46	VII/8 32	VI/9 49	IX/8 53
							Hbs.	VIII/12 72	VI/12 64	XI/11 96	IX/10 75	X/11 85
7	Ochse	3 „	Gesund Schl. gefüttert	7,848	5,4	6,276 99	R. S.	VI/11 58	V/9 40	VIII/6 29	VII/7 40	VIII/7 46
							Hbs.	XII/12 94	VIII/10 64	VIII/7 36	VII/8 46	IX/10 74
8	Kuh	6 „	Gesund Schl. gefüttert	7,632	6,2	4,091	R. S.	VII/12 72	VII/12 63	VIII/10 36	IX/12 66	VIII/9 61
							Hbs.	VIII/12 65	VI/11 46	X/8 55	XI/12 110	VII/11 72
9	Kuh	7 „	Gesund Gut gefüttert	8,708	5,4	5,3093	R. S.	VII/11 61	V/12 49	VII/6 23	VII/7 43	VIII/8 55
							Hbs.	V/12 45	V/9 44	VIII/6 33	VII/7 41	VII/10 47
10	Ochse	7 „	Gesund Sehr gut gef.	7,4808	5,4	6,275 98	R. S.	VIII/10 60	V/11 50	VI/8 25	IX/10 66	VII/7 46
							Hbs.	VII/12 71	V/9 37	VII/6 27	VIII/9 61	IX/8 64

elle I. Pferdeserum.

Gerbsäure	$CuSO_4$	Pikrinsäure	$KCr(SO_4)_2$	$KAl(SO_4)_2$	$Fe_2(SO_4)_3$	$FeSO_4$	$FeCl_3$	Chloressigsäure	Trichloressigsäure	Acetaldehyd	Milchsäure	Pyrogallol
X 11 80	III 12 73	VII/6 34	IV/10 24	VII/11 56	V/11 31	VI/9 42	V/10 23	V/10 22	IV/8 19	IV/3 11	IV/11 16	VIII/3 12
II 12 76	VI/7 38	III/9 10	IV/10 32	V/11 25	VI/9 24	V/10 20	III/10 11	III/10 10	III/2 6	IV/10 11	VII/2 13	
X 8 57	VII 11 65	VII/7 39	IV/9 19	VI/11 38	V/11 20	V/7 26	IV/10 19	III/8 16	IV/9 18	IV/3 12	IV/10 21	VI/3 13
X 10 74	VII 12 75	VII/6 36	III/9 14	IV/10 24	V/10 20	VI/8 27	IV/10 13	IV/10 14	III/10 18	III/2 6	IV/10 12	VIII/3 16
X 10 76	VI 9 50	VII/7 37	IV/10 18	V/9 33	V/10 25	V/8 29	IV/10 13	III/8 8	III/8 15	III/3 8	III/9 8	VII/3 14
X 10 67	VII 12 56	VII/8 41	II/8 11	IV/10 25	III/9 10	IV/7 20	IV/10 11	II/7 6	V/7 14	—	III/9 7	VII/3 14
II 9 59	VII 12 66	VII/8 39	III/9 12	VI/11 39	IV/11 22	V/10 38	IV/11 17	IV/10 18	IV/9 16	III/4 10	IV/10 11	VIII/3 19
II 11 75	VI 12 63	VII/8 43	III/10 9	VI/12 37	V/12 29	VI/12 46	V/12 21	V/11 19	V/11 20	III/5 14	III/10 11	VIII/5 33
X 8 64	VII 10 62	VII/7 36	IV/9 17	V/10 43	IV/10 20	VI/4 13	IV/8 19	III/8 7	III/9 13	III/2 5	III/10 11	V/3 8
X 9 67	III 12 78	VII/6 39	III/9 19	V/9 31	III/10 23	V/3 12	IV/9 14	III/10 13	III/10 23	I/1 1	III/10 8	VII/4 20
II 10 70	VI 11 56	VII/7 35	V/10 25	VI/11 33	IV/10 21	VII/11 43	V/10 2	IV/10 15	IV/10 19	—	IV/10 14	VII/4 22
X 11 84	VI 12 55	VIII/8 47	V/11 14	VI/11 29	V/11 19	VI/11 24	VI/11 22	V/10 17	V/11 17	—	IV/11 11	VIII/4 27
II 7 50	III 12 78	VIII/8 57	III/10 15	V/10 38	IV/11 32	VI/4 19	III/9 13	II/8 6	II/9 11	IV/3 10	III/10 10	VI/4 13
X 11 92	XI 12 104	VIII/7 50	II/8 13	V/10 28	III/10 16	V/2 8	V/10 19	III/8 11	III/7 15	—	II/10 11	VIII/5 22
II 10 65	VII 11 67	VII/8 39	III/8 15	V/11 36	VI/11 31	V/8 29	V/11 19	III/9 10	IV/9 15	II/4 7	IV/11 11	VIII/4 24
II 11 90	VI 12 72	VII/7 38	III/9 14	V/10 31	V/10 22	VI/9 29	IV/11 13	III/7 9	III/9 23	III/5 11	V/10 13	IX/4 30
X 10 72	VII 12 68	VII/7 37	V/11 22	VI/11 39	IV/10 19	VI/10 36	V/11 26	IV/10 15	IV/10 16	—	III/11 11	VII/4 23
X 11 76	VI 12 54	VII/7 41	IV/11 16	VI/12 34	V/11 19	VI/11 28	V/10 16	V/10 11	V/11 16	—	II/9 5	VIII/5 34
I 9 64	VI 11 57	VII/8 38	IV/12 22	VI/11 44	IV/12 41	V/8 27	VI/12 25	IV/9 11	V/10 28	IV/4 13	IV/10 12	V/5 10
X 11 86	IX 12 85	IX/7 41	IV/8 13	V/11 31	IV/9 15	IV/2 6	II/7 5	—	III/2 5	—	—	VII/3 15

le II. Rinderserum.

Gerbsäure	$CuSO_4$	Pikrinsäure	$KCr(SO_4)_2$	$KAl(SO_4)_2$	$Fe_2(SO_4)_3$	$FeSO_4$	$FeCl_3$	Chloressigsäure	Trichloressigsäure	Acetaldehyd	Milchsäure	Pyrogallol
I 9 69	VI 11 59	VII/7 34	VII/11 27	VII/11 43	V/12 31	IV/6 16	V/11 20	V/9 21	IV/8 15	IV/3 10	IV/10 14	—
I 10 73	III 12 76	VIII/7 40	IV/8 15	IV/10 27	II/9 10	V/2 6	V/10 14	III/7 6	IV/8 14	—	—	VII/4 25
I 9 67	VII 10 65	VII/8 47	II/10 30	VII/11 39	V/11 25	V/6 26	V/11 16	VI/12 32	IV/9 13	V/4 15	V/10 14	III/1 3
I 9 72	III 12 65	VII/7 41	IV/9 19	VI/10 34	IV/11 19	VII/8 24	V/10 19	V/9 18	VI/9 30	—	IV/12 14	VIII/4 18
I 8 62	VI 11 60	VII/8 39	V/12 20	V/10 27	VI/11 34	VII/9 51	IV/11 18	IV/9 11	III/8 7	III/4 10	IV/11 12	VIII/3 18
I 11 85	VII 12 54	VIII/8 46	III/9 11	VI/11 38	VI/11 17	VI/11 34	IV/11 12	VI/11 19	VI/12 21	II/4 7	III/11 8	VIII/5 29
I 8 55	VII 10 61	VII/6 34	IV/9 15	VI/10 34	V/9 31	VIII/7 45	IV/9 11	III/6 6	VI/5 22	IV/1 4	IV/10 12	III/1 3
I 10 74	IX 12 88	VIII/6 42	II/9 14	VI/9 32	IV/9 21	VI/7 25	IV/9 17	IV/8 11	IV/8 11	—	II/6 4	VI/3 10
I 9 58	VI 11 57	VII/9 48	VI/11 27	VI/11 42	VII/11 45	VII/10 47	VI/11 19	V/9 15	V/10 13	III/4 11	V/11 17	VII/4 19
I 12 84	VII 12 60	VIII/10 54	V/11 16	VI/11 39	VI/12 36	VII/11 44	V/12 19	V/11 18	V/11 19	III/3 8	IV/11 11	IX/5 34
I 8 53	VI 5 49	VI/8 39	III/9 16	VI/11 37	VI/12 26	V/9 28	IV/9 13	II/7 4	IV/9 16	III/3 8	IV/9 14	III/2 4
I 11 85	X 12 96	IX/5 40	III/8 11	IV/9 32	IV/9 32	VI/7 35	II/7 12	IV/8 15	V/9 23	III/2 5	III/12 19	IX/4 19
I 7 46	VII 11 66	VII/8 41	V/12 33	VI/10 32	IV/9 14	VI/3 10	VI/10 24	IV/9 16	V/9 9	VIII/2 8	V/10 15	—
I 10 74	III 12 85	IX/9 55	—	VI/10 40	III/9 11	VII/2 9	IV/9 8	III/7 9	VII/1 7	—	—	—
I 9 61	III 12 87	VI/7 29	V/9 17	VI/12 35	VI/10 34	V/7 20	VI/12 24	VII/12 32	VIII/12 25	VIII/9 30	VI/12 23	IV/1 4
I 11 72	IX 12 93	VII/6 32	—	V/9 26	—	III/1 2	VI/10 15	IV/10 20	—	—	—	III/2 2
I 8 55	VI 12 59	VII/9 43	II/10 24	V/11 33	VI/10 24	VII/12 59	V/10 24	VII/12 33	V/11 36	VI/2 5	VI/12 28	V/3 13
I 10 47	VI 12 59	VII/6 35	—	III/8 15	III/7 4	III/1 3	III/8 7	—	—	—	—	—
I 7 46	VI 10 54	VII/8 37	IV/9 15	VI/10 41	V/10 25	IV/5 15	V/10 21	VI/9 16	VI/9 23	IX/3 12	VI/12 29	VI/2 9
I 8 64	III 12 70	VII/5 26	III/8 12	I/9 8	III/3 7	II/8 7	—	—	—	—	—	—

Tabelle II

Nr.	Art	Alter		Proz. Eiweiß im rein. Serum	p_H	Proz. Eiweiß im Hbserum		$HgCl_2$	$Cd(NO_3)_2$	Sulfosalicylsäure	Phosphorwolframsäure	Gerbsäure
1	Sau	etwa 8 Monate	Gesund Gut gefüttert	7,632	5,4	4,894 15	R. S.	VII/11 60	VII/11 62	VIII/10 47	VI/10 52	IX/9 6
							Hbs.	VIII/12 73	VII/11 63	IX/8 48	X/12 92	IX/10 7
2	Verschn. Schwein	8 Monate	Gesund Gut gefüttert	9,136	5,4	4,828 46	R. S.	VII/11 62	VI/12 55	VII/9 31	VII/11 53	IX/9 6
							Hbs.	VI/12 60	VII/12 78	IX/7 37	IX/11 77	X/11 6
3	Verschn. Schwein	1½ Jahre	Gesund Gut gefüttert	7,1568	5,8	4,894 15	R. S.	VII/10 59	VI/10 79	VIII/11 51	VI/9 44	IX/10 7
							Hbs.	VIII/12 79	VIII/12 74	VIII/8 39	IX/12 86	IX/11 6
4	Sau	2 „	Gesund Gut gefüttert	9,307	5,6	6,5184	R. S.	VII/10 60	VII/11 63	X/8 47	VI/9 46	IX/9 6
							Hbs.	VII/12 67	VIII/12 78	X/8 49	VIII/11 70	X/10 8
5	Sau	etwa 2 Jahre	Gesund Gut gefüttert	8,9648	6,0	5,311 316	R. S.	VII/11 63	VI/12 59	VII/11 44	VI/10 50	IX/10 6
							Hbs.	VII/12 57	VII/12 66	VIII/10 49	IX/11 80	X/11 9
6	Sau	2½ Jahre	Gesund Gut gefüttert	9,029	5,8	8,4498	R. S.	VIII/11 76	VII/11 63	IX/8 38	VIII/9 62	VIII/8 9
							Hbs.	VII/12 69	VIII/12 79	IX/9 43	VII/10 64	IX/10 7
7	Sau	3 „	Gesund Gut gefüttert	8,064	5,6	7,921 59	R. S.	VII/10 57	VI/10 52	VIII/6 31	VII/9 48	VIII/8 9
							Hbs.	VII/12 73	V/11 45	VIII/7 28	IX/9 72	X/9 6
8	Sau	3 „	Gesund Gut gefüttert	9,35	5,8	5,794 15	R. S.	VIII/12 80	VII/12 64	IX/11 50	VIII/11 65	VIII/9 9
							Hbs.	VI/12 54	VII/12 63	VIII/10 50	IX/12 91	IX/11 9
9	Sau	3½ „	Gesund Gut gefüttert	10,935	5,8	5,794 15	R. S.	VII/12 69	VI/11 58	VII/9 37	VI/10 50	VIII/10 6
							Hbs.	VII/12 65	VII/11 65	IX/8 45	VII/12 72	X/10 8
10	Eber	4 „	Gesund Mittel gefütt.	8,7936	5,4	7,725 53	R. S.	VII/12 74	VI/11 56	VIII/10 43	VII/10 58	VIII/10 6
							Hbs.	VI/12 59	VII/12 69	VIII/11 49	VIII/11 72	IX/10 7

Tabelle II

Nr.	Art	Alter		Proz. Eiweiß im rein. Serum	p_H	Proz. Eiweiß im Hbserum		$HgCl_2$	$Cd(NO_3)_2$	Sulfosalicylsäure	Phosphorwolframsäure	Gerbsäure
1	Wolfshund	etwa 1 Jahr	Gesund Gut gefüttert	8,3014	—	5,311 306	R. S.	VIII/12 81	VI/12 61	VII/10 43	VII/10 58	VIII/8 9
							Hbs.	VI/12 54	V/10 42	IX/8 48	VIII/11 66	IX/12 9
2	Spitz	1½ Jahre	Gesund Gut gefüttert	5,5314	—	5,157 152	R. S.	VI/11 55	VI/12 59	VIII/9 40	VI/11 54	VIII/8 9
							Hbs.	VI/11 49	IV/9 31	IX/8 50	VII/10 61	IX/9 7
3	Spitz	etwa 2 Jahre	Gesund Gut gefüttert	7,113	—	4,345 61	R. S.	VI/11 55	V/11 45	VIII/11 53	VII/10 59	VIII/8 5
							Hbs.	VII/11 60	V/11 43	VII/8 37	VI/10 51	VIII/11 7
4	Dobermann	2 Jahre	Gesund Mittel gefütt.	6,768	—	3,43	R. S.	VII/10 57	VI/12 60	IX/8 41	VII/10 57	VIII/7 5
							Hbs.	V/10 42	III/8 16	VIII/7 32	VI/10 44	XII/8 6
5	Schäferhund	2½ „	Gesund Gut gefüttert	8,494	—	7,242 69	R. S.	VII/9 52	VI/10 53	IX/10 46	VII/10 60	IX/9 6
							Hbs.	VI/11 47	VI/9 46	VII/9 39	VI/10 51	VIII/12 7

Schweineserum.

$CuSO_4$	Pikrinsäure	$KCr(SO_4)_2$	$KAl(SO_4)_2$	$Fe_2(SO_4)_3$	$FeSO_4$	$FeCl_3$	Chloressigsäure	Trichloressigsäure	Acetaldehyd	Milchsäure	Pyrogallol
VII/11 60	VII/7 36	IV/10 22	VI/12 46	V/11 29	VI/10 37	V/11 29	III/8 8	IV/9 17	—	III/10 10	VIII/3 20
IX/12 85	VIII/7 44	IV/10 19	V/11 38	V/10 25	VII/12 36	V/10 26	III/7 7	IV/9 19	—	III/9 7	VIII/5 32
VII/11 64	VII/8 38	IV/10 21	VI/11 39	V/11 25	VI/10 45	V/11 20	IV/10 16	III/9 12	III/6 12	III/11 13	VIII/4 24
VII/12 64	VIII/8 46	V/10 23	VI/11 32	VI/12 33	V/10 34	V/11 21	IV/11 22	V/11 24	II/5 7	III/11 9	VIII/5 34
VI/11 60	VI/7 348	III/10 14	V/11 24	IV/11 26	VI/10 37	V/11 27	IV/9 12	IV/8 12	II/2 4	III/10 11	VIII/4 22
VIII/12 71	VIII/8 46	III/9 14	VI/11 28	V/11 24	V/10 29	VI/11 26	III/9 10	III/8 12	—	III/10 10	VIII/5 28
VII/10 59	VIII/7 48	V/10 32	VI/11 44	V/10 32	VIII/8 34	V/9 17	IV/11 22	V/9 23	V/3 12	IV/10 16	VIII/4 39
VIII/12 74	VIII/8 49	V/9 20	V/10 34	IV/10 26	VI/7 22	IV/10 16	II/11 13	III/11 23	III/2 6	III/9 8	VIII/3 21
VII/12 65	VII/7 37	V/10 26	VII/11 34	V/11 32	VI/11 47	V/11 18	V/9 15	V/11 24	III/5 14	IV/11 12	VI/4 18
VIII/12 72	VIII/7 47	III/9 12	VII/12 31	IV/10 22	IV/9 31	IV/10 18	IV/9 13	IV/8 19	III 4 10	III/11 12	VII/5 27
VIII/12 69	VIII/8 54	V/11 27	V/11 35	V/10 28	VIII/9 44	V/11 19	IV/11 20	IV/10 23	VI/2 8	V/9 15	VII/2 13
IX/12 91	VIII/8 50	IV/7 12	V/10 34	IV/10 20	VII/7 26	V/10 21	III/9 15	III/8 16	II/2 4	III/10 11	VIII/3 20
VII/11 53	VI/7 33	III/8 12	V/10 24	III/7 14	V/3 10	II/7 5	II/6 5	VI/6 17	—	IV/9 9	VI/1 5
VII/12 69	VI/6 28	—	—	III/10 13	V/4 13	IV/9 12	—	IV/2 5	—	—	VII/4 13
VII/12 67	VII/8 39	IV/10 18	V/11 23	V/11 24	VI/11 46	IV/11 12	V/10 18	V/10 23	III/5 11	IV/11 12	VII/4 21
VII/12 86	VIII/8 44	IV/9 17	V/11 28	V/11 31	VII/11 41	IV/11 4	IV/10 17	IV/9 19	III/5 12	III/11 11	VIII/5 32
VII/11 64	VII/9 47	IV/11 13	V/11 31	V/11 24	IV/11 44	V/11 23	IV/10 14	V/11 23	I/3 3	IV/11 18	VII/4 23
VII/12 68	VIII/8 46	IV/10 16	V/11 30	V/11 23	IV/10 35	V/11 26	IV/9 8	V/10 26	I/2 2	III/11 11	VIII/5 29
VI/11 55	VII/7 37	V/10 30	VI/11 38	VI/11 30	VI/11 13	VI/11 23	V/10 16	V/10 21	III/5 11	V/11 23	VII/4 21
VI/12 61	VII/7 43	V/10 20	V/11 20	V/12 26	V/12 36	VI/11 21	V/11 18	V/10 20	II/4 7	IV/11 12	VIII/5 34

Hundeserum.

$CuSO_4$	Pikrinsäure	$KCr(SO_4)_2$	$KAl(SO_4)_2$	$Fe_2(SO_4)_3$	$FeSO_4$	$FeCl_3$	Chloressigsäure	Trichloressigsäure	Acetaldehyd	Milchsäure	Pyrogallol
VI/11 49	VII/8 39	V/11 29	VI/12 45	V/10 24	V/9 37	V/11 22	V/10 23	V/11 24	IV/6 17	V/11 21	VII/5 29
VI/12 51	VIII/8 47	IV/10 16	V/11 43	V/11 34	V/8 28	V/11 26	IV/13 13	III/7 14	II/4 5	III/10 13	VIII/5 29
VII/11 66	VII/7 37	III/8 9	V/9 36	V/11 99	VI/11 41	IV/10 15	IV/7 8	III/9 9	III/3 8	IV/10 12	VI/2 9
VII/12 62	VII/7 37	III/9 9	IV/9 16	III/9 13	III/4 10	II/8 7	II/7 6	II/6 5	II/3 7	II/9 6	VII/3 16
VI/10 58	VII/7 35	VI/8 14	V/9 22	V/11 30	V/11 33	V/10 19	IV/8 12	V/9 15	—	IV/10 11	VII/3 19
VII/12 65	VII/7 35	III/8 14	IV/10 21	IV/11 18	IV/9 24	IV/9 10	II/8 6	II/9 8	—	IV/10 15	IX/4 24
VII/12 65	VII/6 35	VI/10 23	IV/11 43	VI/11 39	VI/9 42	V/11 21	III/9 14	IV/9 15	IV/5 17	V/11 20	VIII/2 11
VII/12 60	VII/6 30	V/9 13	III/9 19	II/10 5	—	—	—	—	—	—	—
VI/10 52	VII/8 39	V/10 24	VI/9 32	VI/11 45	V/9 31	V/11 26	V/9 19	V/9 16	IV/4 14	IV/10 14	VII/3 13
VII/12 61	VII/8 37	III/9 16	III/10 17	IV/11 22	III/6 14	III/10 13	II/8 5	II/9 7	III/3 7	III/10 11	VIII/3 18

Tabelle V. $AgNO_3$.

Nr.	Art	Alter		Proz. Eiweiß im reinen Serum	p_H	Proz. Eiweiß im Hbserum	Proz. Salze		$AgNO_3$	
1.	Wallach	9 Jahre	Gesund Gut gefüttert	7,74	6,0	4,346 614	0,039 368 0,024 472	R. S. Hbs.	VII/9 VIII/12	53 74
2.	„	15 „	Gesund Mittel gefütt.	8,28	5,4	5,311 306	0,057 456 0,021 28	R. S. Hbs.	IX/9 IX/11	72 72
3.	„	etwa 20 Jahre	Gesund Mittel gefütt.	8,172	5,6	6,276 998	0,052 136 0,025 004	R. S. Hbs.	IX/10 VII/10	73 61
4.	Stute	20 „	Gesund Sehr schl. gef.	8,815	6,2	6,276 998	0,038 836 0,014 896	R. S. Hbs.	VIII/11 VIII/12	71 76
5.	Hund (Wolfshund)	1 „	Gesund Gut gefüttert	8,3014	—	5,311 306	0,040 64 0,034 58	R. S. Hbs.	VIII/9 VIII/10	61 66
6.	Hund (Spitz)	etwa 2 Jahre	Gesund Gut gefüttert	7,113	—	4,345 61	0,041 76 0,030 24	R. S. Hbs.	X/10 X/10	83 89
7.	Sau	8 Mon.	Gesund Gut gefüttert	7,632	5,4	4,894 115	0,046 816 0,044 688	R. S. Hbs.	X/9 X/9	51 61
8.	Verschn. Schwein	8 „	Gesund Gut gefüttert	9,136	5,4	4,828 46	0,051 136 0,030 324	R. S. Hbs.	X/10 VIII/11	80 72
9.	Verschn. Schwein	$1^1/_2$ Jahre	Gesund Gut gefüttert	7,1568	5,8	4,894 15	0,046 284 0,038 304	R. S. Hbs.	VIII/9 IX/9	51 59
10.	Sau	2 „	Gesund Gut gefüttert	8,9648	6,0	5,311 316	0,045 752 0,028 728	R. S. Hbs.	VII/9 VII/9	49 51
11.	„	3 „	Gesund Gut gefüttert	9,35	5,8	5,794 152	0,046 816 0,029 26	R. S. Hbs.	IX/8 IX/10	55 67
12.	„	$3^1/_2$ „	Gesund Gut gefüttert	10,935	5,8	5,794 152	0,043 892 0,025 024	R. S. Hbs.	XI/9 IX/10	74 63
13.	Eber	4 „	Gesund Mittel gefütt.	8,7936	5,4	7,725 53	0,050 008 0,026 068	R. S. Hbs.	VIII/9 VIII/9	56 58

Tabelle VI. Alkoholische Fällungsmittel.

Nr.	Art	Alter		Proz. Eiweiß im Serum	n/D	p_H	Konzentrierter Äthylalkohol	Konzentrierter Methylalkohol	Konzentriertes Aceton	0,5 m Furfurol	8,5 m Aceton
1	Kalbin	2 Jahre	Gesund, gut gefüttert	7,4592	1,348 804	6,0	VI/4 20	VII/4 24	VII/6 24	IX/7 42	IX/6 37
2	Ochse	4 „		8,1750	1,350 025	6,0	VI/4 19	VII/4 22	VI/6 23	IX/6 32	VIII/7 33
3	„	6 „		6,8644	1,347 758	6,8	VI/4 15	V/3 13	VIII/6 31	VIII/6 21	IX/8 44
4	„	7 „		7,6320	1,349 100	7,0	VII/4 19	V/4 15	VIII/8 42	IX/7 33	IX/7 41
5	Kuh	7 „		8,0640	1,349 840	5,6	VI/4 20	VII/5 26	VIII/7 37	IX/7 30	X/8 54
6	Ochse	7½ „		7,2000	1,348 360	5,4	VII/4 22	VII/5 24	VIII/8 44	VIII/7 39	IX/10 61
7	„	8 „		8,7722	1,350 610	5,8	VII/4 21	VII/4 21	VII/7 34	X/8 34	X/9 60
8	Kuh	9 „		7,9560	1,349 650	6,6	V/4 15	VII/4 23	IX/8 51	IX/6 34	IX/6 39

Nr.	Art	Alter		Proz. Eiweiß im Serum	n/D	p_H	Konzentrierter Äthylalkohol	Konzentrierter Methylalkohol	Konzentriertes Aceton	0,5 m Furfurol	8,5 m Aceton
1	Sau	8 Mon.	Gesund, gut gefüttert	8,5368	1,350 650	6,0	VI/3 14	VI/4 20	VIII/8 46	VIII/7 39	IX/7 45
2	Verschn. Schwein	9 „		9,1390	1,389 690	5,8	VI/4 17	VI/3 15	VII/6 25	IX/6 37	IX/6 34
3	„	9 „		10,1344	1,353 410	5,4	V/2 7	VI/4 18	VIII/6 36	X/7 41	IX/6 33
4	„	1 Jahr		9,2216	1,351 830	6,0	VI/3 11	VII/4 20	VIII/6 25	IX/6 33	VIII/6 31
5	„	2 Jahre		8,4940	1,350 580	6,2	V/3 12	VI/4 18	IX/8 52	IX/6 33	VIII/7 36
6	Sau	2 „		8,1720	1,350 025	5,8	IV/3 8	VI/4 16	VIII/6 34	X/7 40	IX/8 52
7	„	4 „		9,4560	1,352 230	6,2	VI/5 15	VII/5 23	IX/8 52	VIII/5 26	IX/7 42
8	„	4½ „		9,3500	1,352 050	6,2	V/4 16	VII/4 22	IX/9 59	IX/6 32	IX/6 36

Tabelle VI. (Fortsetzung.)

Nr.	Art	Alter		Proz. Eiweiß im Serum	n/D	p_H	Konzentr. Äthylalkohol	Konzentr. Methylalkohol	Konzentr. Aceton	0,5 m Furfurol	8,5 m Aceton
1	Wallach	3/4 J.	gesund, g. gef.	6,336	1,34687	6,6	V/3 13	VII/5 25	VIII/7 34	IX/7 42	IX/6 39
2	„	9 J.	ges., schl. gef.	7,524	1,348915	6,4	V/4 16	VII/5 29	VIII/7 34	IX/8 40	IX/6 35
3	Stute	9 J.	ges., s. g. gef.	6,7248	1,34753	6,4	V/4 16	VII/6 33	VIII/8 46	IX/8 49	IX/8 51
4	„	10 J.	ges., mitt. gef.	7,2648	1,34847	6,8	VI/4 18	VII/5 26	VIII/7 32	VIII/7 36	VIII/9 52
5	„	12 J.	ges., mitt. gef.	6,9408	1,347906	5,8	VI/4 20	VI/5 21	VIII/7 37	VIII/6 30	VIII/7 41
6	Wallach	14 J.	ges., schl. gef.	6,8112	1,34768	7,0	VI/3 15	V/3 13	VII/6 28	IX/6 34	VIII/7 42
7	Stute	15 J.	„ „ „	6,736	1,34753	6,0	VI/4 19	VI/5 24	VII/6 30	VII/6 24	VIII/8 46
8	Wallach	über 20 J.	gesund, s. schl. gef.	7,956	1,34965	6,4	VI/4 20	VII/5 27	VIII/8 41	VIII/7 40	IX/7 42

Nr	Art	Alter		Proz. Eiweiß im Serum	n/D	p_H	Konzentr. Äthylalkohol	Konzentr. Methylalkohol	Konzentr. Aceton	0,5 m Furfurol	8,5 m Aceton
1	Hündin, Schäfer	1 J.	gesund, g. gef.	6,6816	1,34746	5,8	VI/3 15	VII/5 28	VII/6 33	IX/5 29	IX/6 31
2	Hund, Dobermann	1 J.	„ m. „	6,984	1,34798	6,0	V/4 16	V/4 16	VII/6 30	VIII/8 44	VIII/7 42
3	Hündin, Dobermann	1 1/2 J.	„ g. „	6,6	1,35065	6,0	V/4 15	V/4 14	VI/6 26	VIII/6 32	VIII/7 42
4	Hund	2 J.	„ „ „	6,7348	1,34753	6,0	VI/3 13	VI/4 18	VII/6 28	IX/6 32	IX/6 34
5	„	2 J.	„ „ „	7,6968	1,349211	6,0	V/3 12	V/3 13	VII/8 50	IX/5 29	IX/6 42
6	Hund, Spitz	2 J.	ges., s. g. gef.	6,3792	1,34694	6,4	V/3 12	V/4 16	VII/7 39	VIII/8 45	VIII/8 48
7	Hund, Dobermann	2 1/2 J.	ges., mittel gef.	6,984	1,34718	6,2	VI/4 18	VI/4 18	IX/11 58	IX/6 40	X/6 39
8	„ „	3 J.	„ „ „	6,768	1,34761	5,8	VI/4 16	VI/4 17	VI/8 49	VIII/6 33	IX/8 52
9	Hund, Schäfer	3 J.	ges., s. g. gef.	7,74	1,349285	6,0	VI/3 14	VI/3 15	VII/6 33	VIII/8 45	IX/7 42

Durchschnittszahlen der Gerinnungskraft.

Art		$HgCl_2$	$Cd(NO_3)_2$	Sulfosalicylsäure	Phosphorwolframsäure	Gerbsäure	$CuSO_4$	Pikrinsäure	$KCr(SO_4)_2$	$KAl(SO_4)_2$	$Fe_2(SO_4)_3$	$FeSO_4$	$FeCl_3$	Chloressigsäure	Trichloressigsäure	Acetaldehyd	Milchsäure	Pyrogallol	Resorcin	Phenol	Chloralhydrat
Schwein	R. S.	66	58	42	51	62	62	50	21	34	26	37	19	15	19	9	14	19	—	11	—
	Hbs.	66	68	44	77	81	72	44	17	39	24	30	20	14	18	7	10	27	—	26	—
	Differenz	—	+ 10	+ 2	+ 26	+ 19	+ 10	— 6	— 4	— 4	— 2	— 7	+ 1	— 1	— 1	— 2	— 4	+ 8	—	+ 15	—
Hund	R. S.	60	56	45	58	57	66	37	20	36	33	37	21	15	16	14	16	16	—	—	—
	Hbs.	50	36	41	55	75	60	37	14	23	18	19	14	10	8	6	11	22	—	—	—
	Differenz	— 10	— 20	— 4	— 3	+ 18	— 6	—	— 6	— 13	— 15	— 18	— 7	— 5	— 8	— 8	— 5	+ 6	—	—	—
Pferd	R. S.	67	57	36	59	66	64	30	19	40	27	30	20	13	17	10	13	16	3	—	—
	Hbs.	74	71	39	66	79	70	41	13	30	20	22	15	12	16	8	10	22	—	—	—
	Differenz	+ 7	+ 14	+ 3	+ 7	+ 13	+ 6	+ 2	— 6	— 10	— 7	— 8	— 5	— 1	— 1	— 2	— 3	+ 6	— 3	—	—
Rind	R. S.	64	53	37	53	56	61	39	22	36	31	32	19	19	17	11	18	9	8	—	9
	Hbs.	72	57	45	69	73	75	41	14	29	17	21	14	13	14	7	11	20	—	—	—
	Differenz	+ 8	+ 4	+ 8	+ 16	+ 17	+ 15	+ 2	— 8	— 7	— 14	— 11	— 5	— 6	— 3	— 4	— 7	+ 11	— 8	—	— 9

Die Fällungsbilder mit $Fe_2(SO_4)_3$ und $FeCl_3$ sind beim reinen Schweineserum von jungen und alten Individuen übereinstimmend; auch das Hämoglobinserum zeigt in dieser Richtung keine Unterschiede. Die Fällungsbildertypen des Pferdeserums von $FeCl_3$ gleichen den von organischen Säuren (Milch-, Chloressig- und Trichloressigsäure). Beim Rinderserum sind einige Unterschiede der Bilder von diesen zwei Fällungsmitteln in beiden Richtungen der Verdünnung zu sehen. $FeSO_4$ fällt aus allen Fe-Salzen das reine Serum aller Tierarten am meisten. Die Koagulationskraft des Ferrosulfats, Ferrisulfats und Ferrichlorids ist beim Hämoglobin-, Pferde- und Rinderserum gegenüber der bei reinem Serum sehr erniedrigt; dasselbe gilt für das Schweineserum, wo nur das Ferrichlorid eine Ausnahme bildet. Das Hundeserum hat konstante Typen.

Durch m/10 Salpetersäure wurde weder das reine noch das Hb-Serum aller Tierarten ausgefällt.

Tannin verhält sich zu einzelnen Blutseren verschieden. Beim reinen Pferdeserum wird die Koagulationsfähigkeit mit dem steigenden Alter des Tieres größer, im höchsten Alter aber schwindet diese Regelmäßigkeit. Beim Rinderserum sinkt sie mit dem steigenden Alter und es läßt sich da ein gewisser Zusammenhang zwischen der Serumsacidität und der Koagulationszahl wahrnehmen. (Bei der Acidität von p_H 6 ist die Koagulationszahl 64, bei der Acidität von p_H 5,4 ist sie 54.) Die Fällungsbilder vom reinen Schweineserum sind zwar typisch für dieses hier, aber irgend ein Einfluß des Alters oder Geschlechts auf die Koagulation läßt sich nicht nachweisen. Beim Hundeserum steigt die Fällung mit dem steigenden Tieralter; dieselben Verhältnisse kommen auch beim Hb-Serum, nur ist die Koagulationszahl immer noch größer als bei reinem.

Typisch stufenförmige Fällungsbilder hat die Sulfosalicylsäure sowohl beim reinen als auch beim Hb-Serum aller vier Tierarten. Auffallende Unterschiede übt das Rinderserum aus: das Hb-Serum junger Individuen koaguliert weniger als das reine, während es bei älteren Tieren umgekehrt ist. Die Koagulationszahl des Hb-Serums aller vier Tierarten ist hier größer als die des reinen Serums.

Die Pikrinsäure zeigt bei reinen Seren aller vier Tierarten einen unveränderten Typ. Der Einfluß des steigenden Alters äußert sich beim Schweine bis zu 3 Jahren durch eine Vergrößerung der Koagulation des reinen Serums, beim Pferde auch durch eine Steigerung beim Hb-Serum, beim Rind durch eine Senkung; beim Hunde ist es nicht so markant ausgeprägt. Die Koagulationszahl des Hb-Serums ist beim Pferde und Rinde größer als die des reinen Serums, beim Schweine um sechs Felder kleiner, und beim Hunde ist kein Unterschied.

Die Koagulationskraft der Milch-, Chloressig- und Trichloressigsäure ist bei reinem Serum nicht an dessen größte Konzentration gebunden (mit seltenen Ausnahmen beim Rinderserum). Die Koagulationskraft der Milchsäure steigt regelmäßig mit dem zunehmenden Alter des Schweines. Die Fällungsbilder der Chloressig- und Trichloressigsäure beim Hunde sind durch ihre hintere Grenze in der Richtung der Fällungsmittelverdünnung typisch. Beim Hb-Serum bleibt der Fällungstypus derselbe, nur die Koagulationszahl ist mäßig herabgesetzt (gesunken). Beim Rinde ist die Fällungskraft der Chloressig- und Trichloressigsäure bis zum Alter von $2\frac{1}{2}$ Jahren am besten, dann sinkt sie allmählich und bei noch älteren ist sie überhaupt gleich Null. Die Milchsäure fällt das Hb-Serum weniger

als das reine, bei Tieren bis zu 3 Jahren sogar überhaupt nicht, trotzdem das reine Serum in diesem Alter die größten Koagulationszahlen aufweist.

Die Carbolsäure fällt weder das reine noch das Hb-Serum vom Pferde, Rinde und Hunde, das Schweineserum nur in einem Falle (Versuch 7, Sau, 3 Jahre alt).

Die Fällungskraft des Pyrogallols ist sehr unregelmäßig, obwohl die Fällungsbilder ihren Typus bewahren. Beim reinen und Hb-Serum des Pferdes steigt die Fällung mit zunehmendem Alter. Das reine Serum von jungen Rindern sowie auch das Hb-Serum alter Rinder werden überhaupt nicht gefällt. Beim Schweineserum bestehen gewisse Schwankungen im mittleren Alter der Tiere. Die Koagulationszahl des Hb-Serums ist durchaus größer als die des reinen.

Der Acetaldehyd kann in allgemeinen als ein schwaches Fällungsmittel angesehen werden; er besitzt eine niedrige, beträchtlich schwankende Koagulationszahl. In einigen Fällen koaguliert weder das reine noch das Hb-Serum. Die Koagulationszahl des Hb-Serums ist kleiner als die des reinen.

Die Versuche mit Resorcin und Chloralhydrat sind ebenfalls von diversen Erfolgen. Resorcin fällt das reine Rinderserum nur im Versuche 8, 9 und 10; Chloralhydrat nur im Versuch 7, 8 und 9; alle übrigen Fällungsversuche sind überhaupt ohne Erfolg geblieben.

m/10 Äthylalkohol fällte die Seren aller vier Tierarten nicht; das Studium seiner Fällungskraft ist erst in höheren Konzentrationen möglich.

Weiter verfolgte *Reiner*, inwiefern die Anwesenheit der Chloride im Blute die Serumfällungsfähigkeit beeinflußt. Die Chloridmenge in reinem und auch Hb-Serum wurde durch die Titrationsmethode *Votočkas* festgestellt. Sonst wurde mit 1proz. Serum und einer m/10 Lösung von $AgNO_3$ gearbeitet. Der Kontrolle wegen benutzte *Reiner* physiologische Lösung von 0,85proz. NaCl; diese Kontrolle sowie das betreffende geometrisch verdünnte Serum wurden von dem mit $AgNO_3$ gefällten Felde subtrahiert, und so konnte die Fällungskraft von $AgNO_3$ beurteilt werden.

Die Blutchloride nehmen an der Fällung nur einen sehr geringen Anteil. Die Fällungsbilder des reinen und des Hb-Serums mit $AgNO_3$ sind dem Tannintypus ähnlich. Eine Erhöhung der Fällung durch das Alter wurde nur beim Pferde festgestellt; ein Einfluß des Geschlechts, der Serumacidität und des Ernährungszustandes des Tieres konnte bei Versuchen mit $AgNO_3$ nicht bestätigt werden. Beim Hb-Serum bemerkte man ein auffallend kleineres Quantum der Chloride als beim reinen Serum und ein Steigen der Fällungsfähigkeit gegen das reine Serum.

Weiter arbeitete *Hányš* mit konzentriertem Äthylalkohol, Methylalkohol, Aceton, 8,5 mol. Aceton und m/10 Furfurollösung in 3 mol. Äthylalkohol, welcher schon normales, unverdünntes Blutserum nicht mehr fällt. Er arbeitete mit konzentriertem, reinem Blutserum des Pferdes, Rindes, Schweines und Hundes auf hohlgeschliffenen Gläsern, die man in der Bakteriologie für Untersuchung in hängenden Tropfen verwendet.

Die Fällungsbilder mit konzentriertem Äthylalkohol sind sehr unregelmäßig; die größte Koagulationszahl ist beim Rinderserum 19.

Methylalkohol ist das schwächste Fällungsmittel der Seren aller vier Tierarten. Die Koagulationszahl sinkt deutlich mit der steigenden Serumacidität.

Größere Koagulationszahlen weist der Methylalkohol auf. Der Fällungsbildertypus des Rinder-, Schweine- und Hundeserums bleibt ähnlich,

aber der beim Pferde sticht so ab, daß man Methylalkohol deswegen und auch wegen seiner starken Fällungskraft als Spezifikum für die Pferdeserumkoagulation empfehlen kann. Die Koagulationszahl aller Tierarten sinkt mit der steigenden Acidität der Seren.

Das konzentrierte und 8,5 mol. Aceton bewahren bei allen Tierarten einen konstanten Typus; das 8,5 mol. Aceton hat aber noch meistenteils eine stärkere Fällungskraft als das konzentrierte, indem das erstere noch in einer Konzentration von 0,0166, dieses nur bis 0,0625 fällt.

Das 0,5 mol. Furfurol gibt gleichfalls große Fällungsbilder.

Irgend ein Einfluß der Serumacidität auf die Koagulationszahl ließ sich bei diesen drei Fällungsmitteln nicht nachweisen.

Literatur.

Die vorigen Mitteilungen in dieser Zeitschr.: I. Mitt. **137**, 456; II. Mitt. **138**, 326; III. Mitt. **138**, 335; IV. Mitt. **145**, 98. Biologické spisy vys. školy zvěrolékařské 1922 bis 1925.

Weitere Untersuchungen über den Einfluß der sogenannten Carnosinfraktion des Fleischextraktes auf die Sekretion der Magendrüsen.

Von

R. Krimberg und **S. A. Komarow.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Riga.)

(Eingegangen am 18. Februar 1926.)

Schon vor mehr als 10 Jahren hat der eine von uns die Meinung ausgesprochen, daß die damals vor kurzem neu entdeckten stickstoffhaltigen Basen des Fleischextrakts, nämlich das Carnosin, Carnitin und Methylguanidin, welche mittlerweile auch aus dem Muskelgewebe als dessen präformierte Bestandteile isoliert worden waren[1]), gleich dem schon früher als physiologisch aktiv erkannten Cholin, eventuell die Rolle dynamischer Erreger bzw. Hormone im Organismus spielen könnten. Folglich war das gesamte Muskelsystem des Organismus als ein weit verbreitetes Organ der inneren Sekretion, in welchem unter anderen sehr wichtige und zum Teil sehr aktive Hormone für die Tätigkeit der Verdauungsdrüsen produziert werden, anzusehen. In Anbetracht ihrer Menge schien es sogar nicht ausgeschlossen zu sein, daß die sogenannte „psychische" Sekretion in letzter Linie ebenfalls durch die Einwirkung dieser sowie auch anderer im Blute zirkulierender Hormone hervorgerufen wird. Die ersten diesbezüglichen experimentellen Versuche waren schon im Jahre 1910 (in Charkow) unter Beteiligung des Herrn Dr. *Borodenko* an Hunden mit dem „kleinen" Magen nach *Heidenhain-Pawlow* angestellt worden und hatten nämlich gezeigt, daß das Carnitinchlorid, subkutan appliziert, ohne Zweifel auf die Magendrüsen excitosekretorisch einzuwirken imstande ist[2]).

In den zitierten Arbeiten vertritt der eine von uns die zuerst von *A. Bickel* geäußerte Ansicht, nämlich, daß die Extraktivstoffe der

[1]) *R. Krimberg*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **48**, 412, 1906.

[2]) *Derselbe*, a) Über das Carnitin und seine physiologische Rolle. Festschrift für Prof. Dr. *S. A. Popoff*. Charkow 1913. b) Zur Frage über den Mechanismus der Magensekretion. Charkow 1915. c) Die Hormone usw. Charkow 1918.

Fleischnahrung ihre excitosekretorischen Fähigkeiten hauptsächlich erst nach deren Resorption, also auf humoralem Wege zur Entfaltung bringen könnten. In diesen Arbeiten, in welchen die Hauptelemente zu einer neuen Theorie der Drüsentätigkeit zum ersten Male angegeben sind[1]), werden unter anderem auch die möglichen Gründe besprochen, welche dazu haben führen können, daß von manchen sogar sehr namhaften Laboratorien aus der Fleischextrakt und speziell der *Liebig*sche Fleischextrakt für unfähig erklärt worden ist, auf humoralem Wege Sekretionen der Verdauungsdrüsen hervorzurufen. Es ist in denselben eingehend darauf hingewiesen worden, daß bei subkutaner und ganz besonders intravenöser Applikation des Fleischextraktes der sekretionserregende Effekt in hohem Grade von der Darstellungsweise des Extraktes abhängig ist, und daß speziell in jedem käuflichen Fleischextrakt, wie z. B. im *Liebig*schen, stets in bedeutender Menge Stoffe vorkommen müssen, welche unter normalen Verhältnissen im Blute des Versuchstieres niemals enthalten sind, welche aber nach deren Einführung ins Blut die excitosekretorische Wirkung der intravitalen Muskelhormone stören und unter Umständen dieselbe sogar vollständig hemmen können. Es dürfte sich dabei in erster Linie wohl um einige hochmolekulare Stoffe von kolloidalem Charakter handeln, deren Eliminierung vor dem Gebrauch des Extraktes durchaus notwendig ist. Um dies zu erreichen, sowie um eine weitere Reinigung der Muskelextrakte von Salzen und eventuell auch noch von einigen anderen Stoffen durchzuführen, hat der eine von uns den Vorschlag gemacht, die excitosekretorischen Hormone unter Anwendung irgend einer bekannten Fraktionierungsmethode aus dem Rohextrakt herauszulösen und dieselben in gewissen Fraktionen zu konzentrieren[2]). Da es sich bereits schon damals erwiesen hatte, daß die excitosekretorisch aktiven Muskelhormone wenigstens zum großen Teil den Charakter organischer Basen besitzen, von welchen zurzeit das Carnosin, Methylguanidin und Carnitin, sowie das Cholin als die bestbekannten Repräsentanten gelten, so schien es natürlich am zweckmäßigsten, vor allem den Phosphorwolframsäureniederschlag des Fleischextraktes zu benutzen, aus demselben die entsprechenden Carnosin-, Methylguanidin- und Carnitinfraktionen, z. B. nach der von *Gulewitsch* und *Krimberg* ausgearbeiteten Methode, darzustellen und zwecks Einverleibung bei Versuchstieren anzuwenden[3]).

---

[1]) In ihrer neuesten Form ist diese Theorie vor kurzem in dieser Zeitschr. **157**, 187, 1925 (*R. Krimberg*) veröffentlicht worden.

[2]) *R. Krimberg*, Die Hormone usw., S. 16ff. Charkow 1918.

[3]) *Derselbe*, Über die stickstoffhaltigen Extraktivstoffe der Muskeln. Inaugural-Diss., S. 115ff. Moskau 1907. Hoppe-Seyler-Thierfelders Handb. d. physiol-chem. Analyse 1909, S. 758.

Wir erlauben uns hier, die im hiesigen Laboratorium bis jetzt angewandte Darstellungsmethode der Carnosinfraktion an der Hand eines konkreten Beispiels kurz zu schildern. Es handelt sich nämlich um die Isolierung dieser Fraktion aus ganz frischem Muskelfleisch, sowie aus *Liebig*schem Fleischextrakt zwecks Einverleibung bei Hunden in den weiter anzuführenden Versuchen.

Darstellung der Carnosinfraktionen.

3½ kg Ochsenfleisch, sorgfältigst von Sehnen und Fett befreit, wurden zweimal durch eine Kotelettenmaschine gelassen und in 10 Liter bis zum Sieden erwärmtes Wasser gebracht. Vom Schlachten des Tieres bis zum Hineinbringen der zerkleinerten Muskelmasse ins kochende Wasser waren 1¾ Stunden vergangen; das ins Laboratorium gebrachte Muskelfleisch war noch warm, zuckte mit dem Messer geschlagen und ließ durchaus noch keine Erstarrungszeichen wahrnehmen. Die erste Extraktion mit der angegebenen Menge destillierten Wassers wurde unter Erwärmung bis zu 70 bis 85° C vollzogen und dauerte 30 Minuten; der Auszug wurde unter Benutzung einer Handpresse sorgfältig abgepreßt. Der Rückstand wurde sofort mit 6 Litern Wasser unter denselben Bedingungen weiter extrahiert und ebenfalls scharf abgepreßt[1]). Die erhaltenen ersten zwei Auszüge wurden zusammen eingeengt, die schwach alkalisch reagierende Flüssigkeit wurde bis 90° C erwärmt und mit Essigsäure bis zum Erscheinen eines flockigen Niederschlags, was bei einer deutlich sauren Reaktion auf Lackmus erfolgte, versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit heißem Wasser gewaschen und das eingeengte Filtrat genau bis zu 1 Liter aufgefüllt. Dasselbe enthielt 13,43 g Stickstoff.

Die Flüssigkeit wurde mit 20proz. Bleiacetat unter Vermeidung eines Überschusses ausgefällt, der ziemlich große Niederschlag abgesaugt und sorgfältig gewaschen, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff vom Blei befreit, bis zu etwa 1 Liter eingeengt, mit Schwefelsäure bis zu etwa 5 Proz. angesäuert und mit konzentrierter Phosphorwolframsäure unter Vermeidung eines Überschusses ausgefällt, der Niederschlag abgesaugt, sorgfältig mit 3proz. Schwefelsäure, welche etwa 1 Proz. Phosphorwolframsäure enthielt, gewaschen und mit kristallinischem Bariumhydroxyd auf die übliche Weise zerrieben. Das Filtrat wurde mittels Schwefelsäure und Kohlensäure vom Baryt befreit, abermals filtriert, eingeengt und bis 500 ccm genau aufgefüllt. Dasselbe enthielt 7,3 g Stickstoff.

Die zuerst mit Salpetersäure (spezifisches Gewicht 1,4) bis zur amphoteren Reaktion versetzte Flüssigkeit wurde nachher mit 20proz. Silbernitratlösung ausgefällt und im Eisschrank über Nacht stehengelassen. Der ziemlich bedeutende Niederschlag der Purinbasen wurde abgesaugt und ein wenig gewaschen, zum Filtrat aber wurde noch mehr Silbernitratlösung, nämlich bis zum bekannten *Kossel*schen Punkt hinzugefügt. Das Glas wurde in Eis gestellt und die Flüssigkeit mit warmgesättigtem Barytwasser

[1]) An demselben Tage wurde auf die angegebene Weise noch ein dritter Auszug erhalten. Eingeengt, gelatinierte derselbe beim Erkalten und enthielt nur 0,55 g Stickstoff (im Verhältnis zu der in den ersten zwei Auszügen enthaltenen Stickstoffmenge nur etwa 3,78 Proz.). Dieser letzte Auszug wurde weiter nicht bearbeitet.

ausgefällt, so daß nach Beendigung dieser Manipulation die auszufällende Flüssigkeit höchstens die Zimmertemperatur erreicht haben konnte. Der bedeutende Niederschlag wurde abgesaugt und bis zum Verschwinden des Baryts im Waschwasser gewaschen, sorgfältig mit Sand zerrieben, mit ein paar Tropfen 50proz. Schwefelsäure versetzt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt; nach dem Abfiltrieren wurde die Bearbeitung des Niederschlags mit Schwefelwasserstoff nochmals wiederholt.

Die erhaltene stark alkalische Flüssigkeit[1]) wurde eingeengt, bis 500 ccm genau aufgefüllt und darin der Stickstoff nach *Kjeldahl* sowie der Carnosingehalt nach der in *v. Fürths* Laboratorium ausgearbeiteten kolorimetrischen Methode bestimmt. Es wurden 2,6 g Stickstoff und 9 g Carnosin gefunden, in welch letzteren 2,23 g Stickstoff, d. h. 85,8 Proz. der gesamten Stickstoffmenge der Fraktion enthalten sein mußten. Endlich wurde die Flüssigkeit mit Salzsäure neutralisiert und zwecks Einverleibung eingeengt.

Genau auf dieselbe soeben beschriebene Weise wurde die Carnosinfraktion auch aus dem *Liebig*schen Fleischextrakt dargestellt. Zur Verarbeitung gelangte eine direkt vom „Generaldepot der *Liebigsprodukte*" (in Antwerpen) bezogene, etwa 225 g wiegende Portion des Extraktes, welche 22,4 g Stickstoff enthielt. Die Verteilung dieses Stickstoffs in den einzelnen Fraktionen wies jedoch einen wesentlichen Unterschied im Vergleich mit der Stickstoffverteilung in dem Extrakt aus frischem Fleisch auf, wie aus Tabelle I zu ersehen ist.

Tabelle I.

	Verteilung des Stickstoffs	
	im Extrakt aus frischem Fleisch	im *Liebig*schen Fleischextrakt
Gesamtstickstoff der Extrakte	14,43 g	22,40 g
Stickstoffgehalt in den PWS-Niederschl.	7,30 g	11,43 g
Dasselbe in Proz. des Gesamtstickstoffs	50,59	51,03
Stickstoffgehalt der Carnosinfraktionen	2,60 g	1,94 g
Dasselbe in Proz. des Gesamtstickstoffs	17,61	8,66
Carnosingehalt in den Carnosinfraktionen	9,00 g	3,50 g
Stickstoff des Carnosins	2,23 g	0,87 g
Dasselbe in Proz. des Gesamtstickstoffs	15,45	3,87
Dasselbe in Proz. des Stickstoffs der Carnosinfraktionen	85,77	44,70

Während also durch die Phosphorwolframsäure aus den beiden Extrakten ungefähr die gleiche Menge Stickstoff (etwa 50 Proz. des Gesamtstickstoffs) niedergeschlagen worden war, erwies sich die aus frischem Fleisch erhaltene Carnosinfraktion viel reicher an Stickstoff, als dieselbe Fraktion aus dem *Liebig*schen Fleischextrakt (17,61 Proz. und 8,66 Proz. des Gesamtstickstoffs der Extrakte). Es ist dazu noch

[1]) Die so erhaltene flüssige Carnosinfraktion war nur schwach gelb gefärbt, zum Unterschiede von der auf ebensolche Weise dargestellten Fraktion aus dem *Liebig*schen Fleischextrakt, welche bei ungefähr derselben Flüssigkeitsmenge eine unvergleichlich intensivere Färbung besaß, jedoch weniger Stickstoff enthielt.

sehr auffallend, daß die Carnosinfraktion aus frischem Fleisch sich als viel „reiner" erwies in dem Sinne, daß sie mit 85,77 Proz. aus Imidazolkörpern, auf Carnosin berechnet, bestand, während dieselbe Fraktion aus dem *Liebig*schen Extrakt nur 44,7 Proz. Imidazolkörper enthielt; mit anderen Worten, es war die Menge der „Verunreinigungen" bzw. andersartiger Substanzen in der Carnosinfraktion aus frischem Fleisch 55,3 : 14,3 = 3,86mal kleiner als in der gleichen Fraktion des *Liebig*schen Fleischextraktes.

Tierversuche mit den Carnosinfraktionen.

Die dargestellten Carnosinfraktionen wurden zwei Hunden von je etwa 9 kg Körpergewicht, welchen viele Monate vorher Magen- und Oesophagusfisteln angelegt worden waren, einverleibt, und nur einmal ist ein dritter, auf ebensolche Weise operierter, aber nur etwa 7 kg wiegender Hund benutzt worden. Alle Versuche wurden in der Art ausgeführt, daß die Lösungen in die V. jug. ext. injiziert wurden, während die Tiere sich schon im Gestell befanden. Die Prozedur der Injektionen war für dieselben vollständig harmlos, weil sie daran bereits gewöhnt waren. Die Resultate der Versuche sind in Tabelle II zusammengestellt.

Auf Grund der angeführten Versuche halten wir uns für berechtigt, in bezug auf die excitosekretorischen Fähigkeiten der von uns angewandten Carnosinfraktionen folgendes auszusprechen.

Qualitativ ist die Einwirkung der Carnosinfraktion auf die Magendrüsen des Hundes die gleiche, ob dieselbe aus dem *Liebig*schen Fleischextrakt oder aus ganz frischem Muskelfleisch stammt. Schon wenige Sekunden nach der Injektion trat eine Beschleunigung des Pulses ein (von 90—110 bis 180—250), unter Verminderung seiner Spannung; etwa 5 bis 20 Minuten nach der Einverleibung gewann der Puls jedoch seinen gewöhnlichen Charakter wieder. Zuweilen wurden auch kurz andauernde Dyspnoe und Erbrechensbewegungen bemerkbar. Etwa 1 bis 2 Minuten nach der Injektion beginnt als die erste die Speichelabsonderung. Nach einer in den meisten Fällen etwa 5 Minuten währenden latenten Periode zeigte sich dann der erste Tropfen eines sauren Magensaftes, dessen Absonderung je nach der Größe der einverleibten Dosis von 1½ bis 3 Stunden dauert. In einigen zeitlich voneinander nicht weit abgegrenzten Versuchen läßt sich eine geradezu vollständige Übereinstimmung der Resultate in bezug auf den Verlauf der Magensekretion, sowie auf die Eigenschaften des Sekrets konstatieren (vgl. Versuche 5 und 6). Im allgemeinen aber ist das resultierende Wirkungsbild sogar bei ein und denselben verabgabten Dosen, obwohl qualitativ stets das gleiche, in quantitativer Hinsicht jedoch in den verschiedenen Versuchen sehr oft stark verschieden.

Besonders auffallend ist aber die aus unseren Versuchen hervorgehende Tatsache, nämlich daß *die aus frischem Fleisch erhaltene Carnosin-*

Tabelle II.

Nr. des Versuchs	Hund	Körpergewicht	Datum	Einverleibte Carnosinfraktion					Menge des ausgeschiedenen halbstündiger Ze				
				Lösungsmenge	enthält		entspricht		vor der Injektion		Reakt. d. Magenschleimhaut unmittelbar vor der Injektion	nach	
					Stickstoff	Imidazolkörper	d. angegebenen Menge *Liebig* Fleischextr.	d. angegebenen Mengen fr. Fleisches	2	1		1	2
		kg	1925	ccm	g	g	g	g					
1	1	9	6. X.	16	1,1664	0,576	—	224	2,5	2,0	alk.	23,0	44
2	1	9	8. X.	8	0,0832	0,288	—	112	1,0	1,0	„	5,0	8
3	1	9	26. X.	11	0,1716	0,594	—	231	1,5	1,0	neutr.	11,0	23
4	1	9	27. X.	12	0,1872	0,648	—	252	—	1,0	alk.	60,0	17
5	1	9	13. XI.	10	0,1880	0,350	22,5	—	1,0	1,0	„	34,0	16
6	1	9	17. XI.	10	0,1880	0,350	22,5	—	—	1,0	„	33,0	19
7	1	9	1. XII.	12	0,2256	0,420	27,0	—	3,0	2,0	neutr.	25,0	12
8	2	9	8. X.	10	0,1040	0,360	—	140	0,5	0,5	alk.	8,0	10
9	2	9	20. XI.	20	0,3120	1,080	—	420	1,0	1,0	„	10,0	10
10	2	9	26. X.	10	0,1880	0,350	22,5	—	—	1,0	„	5,0	1
11	2	9	13. XI.	7,5	0,1410	0,264	16,9	—	0	0	„	0	0
12	2	9	17. XI.	10	0,1880	0,350	22,5	—	—	1,0	„	5,0	3
13	2	9	10. XI.	10	0,1880	0,350	22,5	—	—	2,0	„	9,0	2
14	3	7	17. XI.	10	0,1880	0,350	22,5	—	—	1,0	„	15,0	2

Abkürzungen in der Tabelle II.: alk. = alkalisch, b. = bis, Dsp. = Dyspnoe beschleunigung, Spfl. = Speichelfluß, v. = von, w. = weiterer, wh = während.

fraktion eine verhältnismäßig viel stärkere excitosekretorische Wirkung auf die Magendrüsen ausübt, als die auf genau dieselbe Art aus dem Liebigschen Fleischextrakt gewonnene. Rechnet man die nach der Injektion der Carnosinfraktion erhaltene Menge des Magensaftes auf 1 g des eingeführten Stickstoffs um, so erweist es sich nämlich, wie unten aus Tabelle III zu ersehen ist, daß die Aktivität der Carnosin-

Tabelle III.

Versuche	Hund	Ausgangsmaterial z. Darstellung der Carnosinfraktion	Gesamtmenge des einverl. Stickstoffs g	Gesamtmenge d. einverl. Imidazolkörper g	Gesamtmenge des ausgesch. Magensaftes ccm	Magensekretion, umgerechnet auf 1 g einverl. Stickstoffs ccm	Magensekretion, umgerechnet auf 1 g einverl. Imidazolkörper ccm
1 bis 4	1	Frisches Fleisch	0,6084	2,106	280	460	133
8 u. 9	2		0,416	1,44	58	139,4	40,3
5, 6 u. 7	1	*Liebigs* Fleischextr.	0,6016	1,12	165	274,3	147,3
10, 12 u. 13	2		0,564	1,05	28,5	50,5	27,14

Tabelle II.

Magensaftes während tervalle in ccm der Injektion					Dauer der latenten Periode	Sekretionsdauer	Gesamtmenge des ausgeschiedenen Magensaftes	Gesamtaciditat	Freie Salzsäure	Nebenerscheinungen
3	4	5	6	7	Min.	Min.	ccm	ccm	n/10 Lös.	
30,0	15,0	7,0	2,0	0	5	170	122,0	107	97	Erbr., Spfl., Pbschl. b. 150 wh. 2′ 110 wh. w. 10′ n. Inj.
5,0	5,0	0	—	—	12	105	23,0	58	39	Pbschl.
12,0	3,0	1,0	0	—	5	72	50,0	94	70	Dsp., Spfl., Pbschl. b. 240 wh. Inj., 120 wh. 5′ n. Inj.
6,0	2,0	—	—	—	5	120	85,0	98	76	Spfl., Pbschl. b. 250 wh. 5′, 120 wh. w. 5′ n. Inj.
30,0	1,5	0,5	0	—	5	150	62,0	106	89	Spfl., Pbschl. b. 240 wh. Inj., 180—140 wh. 20′ n. Inj.
5,0	5,0	0	—	—	5	130	62,0	104	90	Spfl., Pbschl. v. 110 b. 240 wh. Inj., 130 wh. 20′ n. Inj.
2,0	2,0	0	—	—	5	120	41,0	98	84	Spfl., Pbschl.
1,0	1,0	0	—	—	2	118	20,0	87	74	Spfl., Pbschl. v. 80 b. 180 wh. 2′, 140 wh. w. 5′ n. Inj.
30,0	8,0	0	—	—	5	120	38,0	68	36	Spfl., Pbschl. v. 110 b. 180 wh. Inj., 130 wh. 5′ n. Inj.
0,5	0	—	—	—	5	90	6,5	41	0	Spfl., Pbschl. v. 90 b. 170 wh. Inj.
—	—	—	—	—	—	—	0	0	0	Keine
2,0	0	—	—	—	5	90	10,0	20	0	Spfl., Pbschl. v. 90 b. 190 wh. 2′, 150 wh. w. 3′ n. Inj.
1,0	0	—	—	—	5	90	12,0	82	70	Spfl., Pbschl. v. 110 b. 240 wh. 5′, 150—120 wh. w. 5′ n. Inj.
2,0	0	—	—	—	5	85	19,0	82	54	Spfl., Pbschl. v. 90 b. 180—150 wh. 5′ n. Inj.

Erbr. = Erbrechen, Inj. = Injektion, n. = nach, neutr. = neutral, Pbschl. = Puls-

fraktion aus frischem Fleisch für den Hund 1 durch die Zahl 460 und für den Hund 2 durch die Zahl 139 ausgedrückt wird, während für dieselbe Fraktion aus dem *Liebig*schen Extrakt die entsprechenden Zahlen nur 274 und 50 sind. Es hat sich somit erwiesen, daß die Aktivität der Carnosinfraktion aus frischem Fleisch in den Versuchen mit dem ersten Hunde 1,7 und in den Versuchen mit dem zweiten Hunde sogar 2,8mal größer ist als die Aktivität derselben Fraktion aus dem *Liebig*schen Fleischextrakt.

Es ergibt sich aus unseren Versuchen unter anderem also die sehr wichtige Schlußfolgerung, daß nämlich in bezug auf seine physiologische Wirksamkeit der käufliche *Liebig*sche Extrakt dem aus ganz frischem Muskelfleisch dargestellten durchaus nicht gleichzustellen ist, und daß zu dem Versuche, den etwaigen Einfluß auf die Tätigkeit der Verdauungsdrüsen zu ermitteln, sowie zur Prüfung der physiologischen Aktivität überhaupt, womöglich *nur frisch dargestellte Muskelextrakte* Verwendung finden sollten. Wie schon oben erwähnt, ist aber bis jetzt die Mehrzahl dieser Versuche gerade mit dem *Liebig*schen Extrakt

ausgeführt worden, welcher Umstand, unserer Meinung nach, auch als einer der Gründe in Betracht gezogen werden müßte, weshalb die Resultate zuweilen nur sehr schwach positiv und nicht selten sogar vollständig negativ ausgefallen sind.

Wenn man sich dessen erinnert, daß vom Gesamtstickstoff der Carnosinfraktion auf die Imidazolbasen in unserem Extrakt aus frischem Fleisch 85,77 Proz., im *Liebig*schen Extrakt dagegen nur 44,70 Proz. fallen (Tabelle I), so liegt die Vermutung nahe, daß die größere Aktivität der Carnosinfraktion aus frischem Fleisch in erster Linie wohl durch deren höheren Gehalt an diesen Basen zu erklären wäre. Rechnet man die in den entsprechenden Versuchen erhaltenen Mengen des Magensekrets auf die Einheit der mit den Carnosinfraktionen einverleibten Imidazolbasen um, so sieht man tatsächlich, daß die excitosekretorische Wirkung dieser Fraktionen in den Versuchen mit dem Hunde 1 praktisch vollständig die gleiche ist (133 und 147) (Tabelle III), in den Versuchen mit dem Hunde 2 aber ist der Unterschied, wenn man die Bedingungen eines Tierexperiments in Betracht zieht, so unbedeutend, daß die Wirkung ebenfalls als ungefähr die gleiche angesehen werden kann (40 und 27).

Zum Schluß möchten wir noch darauf hinweisen, daß schon solche Gaben der Carnosinfraktion, welche nur 200 bis 400 g frischen Fleisches, d. h. weniger als einer gewöhnlichen Hundemahlzeit entsprechen und nur (200 bis 400) . 100 : 3000 = 7 bis 13 Proz. vom Gewicht des Muskelgewebes des Versuchstieres (bei 9 kg Körpergewicht und 3 kg Muskelgewebe) ausmachen, sich als in hohem Grade aktiv erwiesen haben. Interessanterweise hat sich schon sogar eine Gabe, welche nur 112 g feuchten Muskelgewebes entspricht oder 112 . 100 : 3000 = 3,7 Proz. vom Gewicht des Muskelgewebes des Versuchstieres ausmacht, als fähig erwiesen, eine bedeutende Sekretion des Magensaftes hervorzurufen (23 ccm, Gesamtacidität = 58).

Über die Veränderung der Blutbeschaffenheit schwerer Diabetiker nach länger dauernder Insulineinwirkung.

Von

O. Klein.

(Aus der deutschen medizinischen Universitätsklinik in Prag.)

(Eingegangen am 19. Februar 1926.)

In früheren Untersuchungen[1]), welche das Verhalten des Wasser- und Salzwechsels, insbesondere die Änderungen des intermediären Wasser- und Salzwechsels bei Diabetikern unter der Einwirkung von Insulin zum Gegenstand hatten, wurde das eigenartige Verhalten des Blutwasser- und Blutkochsalzgehalts beschrieben, welches nach länger dauernder Insulinbehandlung namentlich bei schweren Fällen beobachtet werden kann.

Die Ergebnisse jener Studien waren kurz folgende: Nach den ersten Insulininjektionen beobachtet man bei schweren Fällen 3 bis 4 Stunden post injectionem einen Salz- und Wasserverlust des Blutes, d. h. also eine Zunahme der Blutkonzentration. Dauert bei schweren, namentlich bei acidotischen Fällen die Insulinbehandlung einige Tage lang an, so kommt es zu einem starken Ansinken der Blutkonzentration und einer deutlichen Zunahme des Blutkochsalzgehalts gegenüber der Zeit vor der Insulinbehandlung. Diese unter Insulinbildung auftretende Wasser- und Salzanreicherung des Blutes zeigt sich am deutlichsten in den Nüchternwerten bzw. in den mittleren Tageswerten, also, wenn der Kranke ohne exogene alimentäre Beeinflussung ist und auch keine kurz vorher erfolgte Insulininjektion die Blutzusammensetzung unmittelbar beeinflußt. In den genannten Untersuchungen bildete den Maßstab für die Beurteilung des Blutwassergehalts die Trockensubstanz des Gesamtblutes, der Serumeiweißgehalt und die Erythrocytenzahl, welche alle drei in jedem Falle stets bestimmt wurden. Alle drei Blutbestandteile zeigten Änderungen in gleichem Sinne; so sank die Erythrocytenzahl (= E. Z.) in einem Falle von 6200000 auf 3900000, die Trockensubstanz (= T. S.) von 24 Proz., in einem anderen Falle von 28 auf 16 Proz. und tiefer, der Serumeiweißgehalt von 10 auf 5,8 Proz. Diese Änderung der Blutbeschaffenheit tritt dabei schon nach einer Insulinbehandlung von sehr wenigen Tagen ein und besteht, wie aus den Zahlen zu ersehen ist, in einer enormen Blutverwässerung[2]).

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. **100**, 458, 1924; Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **43**, 665 u. **47**, 309, 1924/25; hier auch Literatur.

[2]) Später haben *Widal* und Mitarbeiter (Presse médicale 1924) die gleichen Befunde erhoben.

Bei allen solchen Fällen, bei denen innerhalb kurzer Zeit eine so bedeutende Zunahme des Wassergehalts im Blute erfolgte, zeigte ein rapider Körpergewichtsanstieg (z. B. 12 kg in 7 Tagen), daß auch die übrigen Körpergewebe eine rapide Wasserzunahme erfahren haben. Die Körpergewichtszunahme und der Grad der Wasseranreicherung des Blutes gehen annähernd der Höhe der Insulindosis parallel. Die nachfolgenden Beobachtungen bilden eine Ergänzung jener früheren Studien.

Es wurde in einer größeren Anzahl von schweren Diabetesfällen die Änderung der Blutbeschaffenheit unter Insulinwirkung beobachtet. Es handelte sich vor allem um die Untersuchung des Nüchternblutes. Außer Blutzucker und wie bereits früher Erythrocytenzahl, Serumeiweißgehalt, Trockensubstanz und Blutkochsalzgehalt wurden noch andere Eigenschaften des Blutes, und zwar die Molekularkonzentration des Serums bzw. die Konzentration der gesamten gelösten Teile (Moleküle + Ionen), Bestimmung durch Gefrierpunktserniedrigung ($= \Delta$), die Oberflächenspannung des Serums und die Serumviskosität ($= \eta$) bestimmt. Die Untersuchungen bezogen sich überwiegend auf schwere Diabetesfälle, einige mittelschwere und leichte, ferner auch auf einige Nichtdiabetiker, bei denen auf Grund des bestehenden Leidens die Durchführung einer Insulinmastkur indiziert erschien.

In der tabellarischen Zusammenstellung findet sich nur ein Teil der Untersuchungsergebnisse (12 Fälle) mitgeteilt. Davon betreffen zehn Fälle Diabetiker, und zwar sieben schwere Fälle, drei mittelschwere bzw. leichte Fälle; bei den zwei Nichtdiabetikern handelt es sich um Fälle von leichter Lungentuberkulose, bei welchen eine Insulinmastkur durchgeführt wurde.

Methodisches.

Die Blutzuckerbestimmung wurde nach *Bang* durchgeführt (drei Kontrollbestimmungen), die Blutkochsalzbestimmung gleichfalls nach *Bang*[1]); bei Bestimmung der E. Z. wurden Doppelzählungen vorgenommen (*Thoma-Zeiss*sche Kammer), die T. S.-Bestimmung erfolgte nach *Bang* (drei Kontrollbestimmungen). Die Viskosität wurde mit dem *Determann*schen Viskosimeter bestimmt (mindestens zwei Kontrollbestimmungen). In einzelnen Fällen wurde neben der Viskosität des Serums auch die Viskosität des Gesamtblutes und Plasmas bestimmt. Zur Verhinderung der Gerinnung (bei Bestimmung der Plasmaviskosität) wurde Novirudin verwendet. In den Tabellen findet sich nur die Serumviskosität angeführt, da dieselbe stets in der ganzen Serie vorgenommen wurde. Der Serumeiweißgehalt wurde refraktometrisch (Eintauchrefraktometer von *Pulfrich*) bestimmt. Die Bestimmung erfolgte sowohl im Kapillarblut als auch im Venenblut, angeführt finden sich nur die Werte des Kapillarblutes. Die Oberflächenspannung des Serums wurde durch Ermittlung der Tropfenzahl mit Hilfe des Stalagmometers von *Traube* bestimmt[2]). Die Zahlen in den Tabellen beziehen sich auf die Tropfenzahl des Wassers; dieselbe wurde mit 100 Normal-

[1]) Kontrollbestimmungen!

[2]) Also die „dynamische" Oberflächenspannung!

tropfen angenommen. Die auf Wasser bezogene Tropfenzahl des betreffenden Serums Z wurde nach der Formel $Z = Z_n/Z_w$ (Z_n = die ermittelte absolute Tropfenzahl des Serums, Z_w = die Tropfenzahl des Wassers in dem betreffenden Stalagmometer). Die Gefrierpunktserniedrigung des Serums ($= \Delta$) wurde mit Hilfe des *Beckmann*schen Apparats (mindestens zwei Kontrollbestimmungen) ermittelt. Das Blut wurde mit Ausnahme eines Falles, bei welchem zwei Blutuntersuchungen an einem Tage vorgenommen wurden (Fall 2), stets nüchtern aus der Fingerbeere, zur Kryoskopie und Stalagmometrie aus der Vene durch Venaepunction entnommen. Bei allen Fällen wurde das Blut ein oder mehrere Male vor der Insulinbehandlung, ferner in bestimmten Zeitabständen während der Insulinbehandlung mehrere Male untersucht. Das Körpergewicht wurde immer zur selben Tageszeit, morgens im Nüchternzustand bestimmt. Dieses sowie die Insulindosis findet sich in den Tabellen vermerkt. Die Diät bestand bei den meisten Fällen je nach Körpergewicht in 50 bis 70 g Eiweiß, 40 bis 60 g Kohlehydraten, 150 bis 180 g Fett. Der Kochsalzgehalt war ein mittlerer, 10 bis 15 g. In zwei Fällen wurde mit Absicht, um den Einfluß dieser Maßnahme auf die Blutbeschaffenheit zu studieren, der Kochsalzgehalt der Kost vorübergehend stark (auf 2 bis 4 g NaCl) reduziert, hernach wurden wieder einige Tage mit sehr kochsalzreicher Diät, 20 g NaCl, eingeschoben. Ein Fall erhielt durch längere Zeit hindurch überwiegend Kohlehydratkost (Mehlfrüchtetage). Die entsprechenden Daten sind in den Tabellen vermerkt.

Wie die Zahlen in den Tabellen zeigen, bilden die hier mitgeteilten Untersuchungsergebnisse, soweit es sich um schwere Diabetiker handelt, eine Bestätigung der früher mitgeteilten, oben angeführten Befunde. Im einzelnen verhielten sich die verschiedenen Blutbestandteile unter Insulinbehandlung folgendermaßen:

Die *Erythrocytenzahl* und die *Trockensubstanz (Nüchternwerte) sinken* in fast allen schweren Fällen (Fall 1, 2, 3, 5, 7, 10) *während der Insulinbehandlung gegenüber der Zeit vor der Insulineinwirkung ganz bedeutend ab*[1]). Am deutlichsten findet sich diese Erscheinung bei den schweren Fällen (1 und 7), die im präkomatösen Zustand eingeliefert wurden und in Behandlung kamen. *Der Serumeiweißgehalt* zeigte in allen diesen Fällen unter der Insulineinwirkung *gleichfalls eine Abnahme*, doch ist in quantitativer Hinsicht der Ausschlag weniger deutlich. Bei den mittelschweren und leichten Fällen findet sich in bezug auf die Änderungen der E. Z., der T. S. und des Serumeiweißgehalts ein ähnliches Verhalten, doch sind die Änderungen nicht so regelmäßig, und die einzelnen Blutbestandteile ändern sich nicht immer in gleichem Sinne. Das nämliche gilt auch für die Nichtdiabetiker, die mit Insulin behandelt wurden. So sinkt bei Fall 4 in den ersten Tagen der Insulinbehandlung die E. Z., während die T. S. sich kaum ändert, der Serumeiweißgehalt sogar ansteigt. Es bildet in diesem Falle die Höhe der T. S. sozusagen einen Interferenzwert zwischen den beiden anderen Blutbestandteilen (E. Z. und Serumeiweißgehalt). Bei Fall 8 sinken allerdings alle drei Blutbestandteile in gleichem Sinne, wie bei den schwereren Fällen. Bei Fall 6, einem leichten Diabetiker, zeigen E. Z.,

[1]) Das Absinken der Nüchternwerte der Blutkonzentration nach länger dauernder Insulineinwirkung ist das viel deutlichere und augenfälligere Phaenokular als der kurz dauernde Anstieg derselben unmittelbar nach der Insulininjektion. Typische Beobachtungen siehe in den früheren Arbeiten: Zeitschr. f. kl. Med. **100**, 467; Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **43**, 691.

der Serumeiweißgehalt und T. S. in den ersten Tagen der Behandlung sogar einen Anstieg. Das hängt wohl zum Teil damit zusammen, daß dieser leichte Fall in der Zeit vor der Insulinbehandlung, als die erste Blutentnahme erfolgte, unter Kohlehydrat und eiweißarmer Diät (Gemüsetage) stand, in welcher Diätperiode, wie bereits früher gezeigt werden konnte, der Nüchternwert der Blutkonzentration bei Diabetikern relativ niedriger ist, im Gegensatz zu Perioden von kohlehydrat- und eiweißreicher Kost[1]). Die zuerst von *Jaksch* beobachtete Bluteindickung bei schweren Diabetesfällen findet sich also nur in Perioden gemischter Kost [*O. Klein*[1])]. Bei Nichtdiabetikern (Fall 11 und 12) auch bei den hier nicht mitgeteilten Fällen — zeigen die genannten Blutbestandteile unter Insulinbehandlung gleichfalls meist eine Tendenz zur Abnahme, jedoch bewegen sich die einzelnen Blutbestandteile keineswegs immer gleichsinnig, und ihr diesbezügliches Verhalten zeigt nicht die Gesetzmäßigkeit, wie bei schweren mit Insulin behandelten Diabetesfällen.

Die Nüchternwerte des Blutkochsalzgehalts zeigen unter Insulinbehandlung bei schweren Fällen *gegenüber der Zeit vor der Behandlung einen deutlichen Anstieg.* Dieses Verhalten konnten wir fast ausnahmslos bei allen schweren mit Insulin behandelten Fällen beobachten, auch in den hier angeführten schweren Fällen (Fall 1, 2, 3, 5, 7, 10) zeigt der Blutkochsalzwert diesen Anstieg. Auf das Verhalten des zweiten Wertes bei Fall 2, der im Blute 4 Stunden nach der ersten Injektion am 17. Dezember gefunden wurde, wird noch später eingegangen werden. Es handelt sich hier um die erste Phase der Insulinwirkung. Bei den leichteren Fällen und bei den Nichtdiabetikern ist auch die Bewegung des Blutkochsalzspiegels (ähnlich wie das Verhalten der T. S., E. Z. usw.) nicht einheitlich und das Verhalten kein gesetzmäßiges.

Bei Fall 2 wurde das Blut am Tage der ersten Insulininjektion zweimal, das erste Mal nüchtern und das zweite Mal 4 Stunden nach der Insulininjektion — also auf der Höhe der Insulinwirkung — untersucht. Der Blutzucker (= B. Z.) fiel von 0,307 auf 0,08 Proz. ab, die *Blutkonzentration zeigt eine Zunahme*, die sowohl in einem *Anstieg der E. Z., des Serumeiweißgehalts*, als auch *der T. S.* — besonders der beiden letzteren Werte — ihren Ausdruck fand. Gleichzeitig mit der Wasserabnahme des Blutes erfolgte auch eine *Abnahme des Blutkochsalz*gehalts (*Abstrom von H_2O und NaCl aus der Blutbahn nach der ersten Insulininjektion*). Der *Anstieg des Gefrierpunkts des Serums* um drei Zehntelgrade deutet auf eine *Abnahme der gesamten Molekularkonzentration* (Moleküle + Ionen) hin: Vielleicht erfolgt außer dem Austritt von Kochsalz auch ein Austritt anderer osmotisch aktiver Blutbestandteile (Elektrolyte!) aus dem Blute. Es soll hier nur auf die von *Harrop* und *Benedikt, Briggs, Doisy* und *Weber, Staub*[2]) u. a. gefundene Abnahme des anorganischen Phosphors und des Kaliums unter Einwirkung von Insulin hingewiesen werden. Schließlich mag auch das starke Absinken des B. Z. zum Teil als Ursache für das Kleinerwerden von Δ eine Rolle spielen.

Es sei hier noch das Verhalten des schweren Falles *K.* (Fall 3) und des mittelschweren Falles *V.* (Fall 4) des näheren besprochen. Bei diesen Kranken wurde, nachdem sie bereits unter länger dauernder Insulinbehandlung standen, das Diätregime in dem Sinne geändert, daß nach einer

[1]) Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **43**, 665.

[2]) Ausführliche Literaturangabe siehe bei *Staub*, Insulin, 2. Aufl. Berlin, J. Springer, 1925.

Kostperiode mittleren Kochsalzgehalts ein plötzlicher Übergang zu kochsalzarmer Diät stattfand (betreffs der näheren Daten siehe Tabelle). Die Zahlen zeigen sehr deutlich, daß *bei dem schweren Fall*, bei dem in kurzer Zeit unter Insulinbehandlung ein rapider Körpergewichtsanstieg zu verzeichnen war, *ein wesentlicher Teil der Gewichtszunahme nach Entzug des Kochsalzes aus der Nahrung verloren geht.* Offenbar hatte es sich hier großenteils um retiniertes Wasser gehandelt. Geht man hernach wieder zu kochsalzreicher Kost über, so wird der Körpergewichtsverlust, wie aus der Tabelle deutlich ersichtlich ist, wieder eingebracht. Im Gegensatz dazu zeigt bei Fall *V.* (mittelschwer) der unter Insulinbehandlung auch weniger an Körpergewicht zugenommen hatte wie der eben genannte Fall, und bei welchem vor allem der Körpergewichtsanstieg viel allmählicher erfolgt war, das Körpergewicht kaum nennenswerte und die Blutkonzentration geringere Schwankungen beim Wechsel des Diätregimes als beim schweren Fall *K.* In beiden Fällen sind die Schwankungen beim Übergang von salzreicher zu salzarmer Diät und umgekehrt sehr charakteristisch. Beim Übergang von salzreicher zu salzarmer Kost kommt es besonders bei Fall 3 zu einem sprunghaften Anstieg der unter der Insulinbehandlung bereits stark abgesunkenen Blutkonzentration, also zu einem starken Wasserverlust des Blutes. Es zeigen hier fast gleichzeitig mit dem Absinken des Blutkochsalzspiegels und bei Fall *K.* gleichzeitig mit der Abnahme des Körpergewichts sowohl E. Z. als auch der Serumeiweißgehalt und die T. S. einen ganz beträchtlichen Anstieg, dabei ist der Ausschlag im Verhalten der E. Z. und T. S. deutlicher als der im Verhalten des Serumeiweißgehalts. Beim Übergang von salzarmer zu salzreicher Kost kommt es zu einer Wiederherstellung der früheren Verhältnisse: Das Blut nimmt an Wasser und Kochsalz zu, die T. S., E. Z. und der Serumeiweißgehalt sinken annähernd zu ihrem früheren Werte ab. Dieses Verhalten ist besonders bei Fall *K.*, dem schweren Diabetiker, sehr deutlich, weniger bei dem mittelschweren Fall *V.* Es verhält sich also der mit Insulin behandelte schwere Fall *K.* sowohl in bezug auf das Körpergewicht als auch in bezug auf die Blutkonzentration wie ein wasser- und salzreich ernährtes Individuum, ja fast wie ein Kranker im Stadium des latenten Ödems (Präödems). Die Gewebe und das Blut verfügen hier über relativ sehr viel leicht mobilisierbares Wasser und Kochsalz. Bei Reduktion der Kochsalzzufuhr in der Nahrung geht diese Reserve der Gewebe und des Blutes an Wasser und Salz (das zirkulierende Kochsalz und die Kochsalzplethora von *V. H. Veil*) zum Teil verloren. Es kommt durch den Verlust des durch die Kochsalzverarmung frei werdenden Wassers (Reduktionswasser von *Tobler*) zum Gewichtsverlust und zur Abnahme von Wasser und Salz im Blute. Der Umstand, daß *beim schweren mit Insulin behandelten Diabetiker* die Ausschläge viel größer, *die Wasser- und Salzanreicherung des Organismus bedeutender* ist, als beim mittelschweren mit Insulin behandelten Fall, weist darauf hin, daß *bei ersterem unter der Insulinwirkung viel mehr Wasser und Salz retiniert worden* ist als bei letzterem. Bei beiden Fällen nimmt trotz Absinken des Blutkochsalzgehalts die Molekularkonzentration (Summe der gelösten Teilchen: Moleküle + Ionen) des Serums beim Übergang von salzreicher zu salzarmer Diät zu, d. h. wird größer. Offenbar ist der Einfluß der sehr bedeutenden Wasserabnahme des Blutes auf die gesamte Molekularkonzentration, den osmotischen Druck des Blutserums größer als die Abnahme des Blutkochsalzgehalts.

Vom rein methodischen Gesichtspunkt — für das Studium des intermediären Wasserwechsels — scheint es von Interesse, daß hier auf die

Änderungen des Wasserbestandes des Blutes aus den Bewegungen der drei Blutbestandteile: E. Z., Serumeiweißgehalt und T. S. geschlossen wurde. Auch in den früheren Untersuchungen[1]), die das Verhalten des intermediären Wasserwechsels zum Gegenstand hatten, wurden diese drei Blutbestandteile bestimmt. Zu mindest aber das Verhalten zweier Blutbestandteile (z. B. Serumeiweißgehalt + E. Z.) berücksichtigt. Dort wie hier konnte festgestellt werden, daß bei größeren Schwankungen des Blutwassergehalts sowohl E. Z. als auch T. S. und Serumeiweißgehalt Bewegungen in gleicher Richtung zeigen. Den geringsten Ausschlag zeigen dabei die Schwankungen des Serumeiweißgehalts. Bei geringen quantitativen Änderungen im Blutwassergehalt kann der Serumeiweißgehalt, wenn z. B. T. S. und E. Z. sinken — worauf ja bereits *Nonnenbruch*, *Berger* u. a. hingewiesen haben —, unverändert bleiben, ja sogar etwas ansteigen, offenbar infolge Einschwemmung von Eiweiß mit dem aus dem Gewebe in die Blutbahn einströmenden Transsudat bei eintretender Blutverdünnung (Wasserzunahme des Blutes). Auf die hier bestehenden Zusammenhänge wurde bereits von früheren Untersuchern [*Nonnenbruch*, *Veil* u. a.[2])] genügend hingewiesen. Was speziell das diesbezügliche Verhalten der einzelnen Blutbestandteile beim intermediären Wasserwechsel *des Diabetikers* betrifft, so wurde dasselbe in früheren Untersuchungen eingehend erörtert. Es sei hier nur dahin verwiesen. In bezug auf die Streitfrage, ob es methodisch richtiger ist, aus den Bewegungen der E. Z. (bzw. des Hämoglobingehalts) oder denen des Serumeiweißgehalts auf Änderungen des Wassergehalts des Blutes zu schließen (*V. H. Veil*, *Nonnenbruch*) muß auf Grund früherer und vorliegender Untersuchungen ein mittlerer Standpunkt eingenommen werden. Denn alle größeren Schwankungen des Wassergehalts des Blutes spiegeln sich in gleichsinnigen quantitativen Veränderungen beider Blutbestandteile wieder. Bei geringeren Schwankungen des Wassergehalts werden die Bewegungen weniger einheitlich, es bleibt hier besonders der Serumeiweißgehalt selten zurück, zeigt gar keine Änderung oder eine solche in entgegengesetztem Sinne. Die Werte der T. S. bewegen sich meist in der Mitte zwischen denen der E. Z. und des Serumeiweißgehalts[3]).

Über das Verhalten der Gefrierpunktserniedrigung (Δ) beim Diabetes mellitus finden sich bereits in früheren Arbeiten reichlich Angaben (*v. Koranyi* u. a.). In letzter Zeit hat *Lippmann*[4]) diesbezügliche Beobachtungen veröffentlicht. Er fand in mehreren Fällen von Diabetes mel. den Gefrierpunkt des Serums herabgesetzt. Diese Zunahme der Molekularkonzentration des Diabetikerserums läßt sich, wie aus den Berechnungen dieses Autors mit Sicherheit hervorgeht, nicht allein auf die Erhöhung des B. Z. zurückführen. Da der Gehalt des Diabetikerserums an Elektrolyten kaum erhöht ist, ja vielleicht im Gegenteil, wie auch wir bei den meisten schweren Fällen

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. **100**; Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **43**.

[2]) *W. H. Veil*, Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. **23**, 648, 1923; *Nonnenbruch*, ebendaselbst **26**, 119, 1925.

[3]) Wir haben deshalb beim Studium des intermediären Wasserwechsels in den früheren Untersuchungen und auch hier stets mindestens das Verhalten zweier Werte, z. B. der E. Z. und der Serumrefraktion, und wenn es aus technischen Gründen möglich war, d. h. die Serie der Blutentnahme nicht zu dicht war, auch noch das Verhalten der T. S. des Gesamtblutes berücksichtigt.

[4]) Zentralbl. f. inn. Med., 41. Jahrg., S. 41, 1920.

finden konnten, der Kochsalzgehalt des Diabetikerblutes oft deutlich erniedrigt ist [Hypochlorämie des Diabetikerblutes (siehe die früheren Befunde von *E. Reis*, *V. H. Veil*, *Meyer-Bisch* u. a.)], so müssen für die Erhöhung der Gesamtmolekularkonzentration andere Stoffe außer Zucker und Elektrolyten verantwortlich gemacht werden. Mit Recht weist *Lippmann* diesbezüglich auf die Substanzen des Restkohlenstoffs (Ketonkörper, Fettsäuren u. a. zum Teil noch unbekannte Stoffe), die im Blute des Diabetikers von *Stepp*, *Gigon* stark vermehrt gefunden wurden, als für die Erhöhung der Molekularkonzentration in Betracht kommend, hin. Die eigenen Messungen ergaben, wie die vorliegenden Zahlen zeigen, bei einzelnen Fällen, aber keineswegs bei allen, pathologisch große Werte für Δ. Derart abnorm große Werte für Δ (Δ tiefer als $-0{,}58$) wurden bei Fall 2, 4, 7, 9 vor der Insulinbehandlung gefunden. Bei letzterem Falle, der nur einmal untersucht wurde (es handelt sich um ein Coma diabeticum), wurde bei bestehender Bluteindickung (hohe Werte der E. Z., des Serumeiweißgehalts) bei hohem B. Z. (über 0,5 Proz.) bei fehlender Erniedrigung des Blutkochsalzgehalts, niedriger Alkalireserve, hochgradiger Ketonurie für Δ der Wert von $-0{,}68$ gemessen. Auch bei Fall 7 bestand eine Bluteindickung (E. Z. und T. S. sehr hoch!) bei fast normalem Blutkochsalzgehalt. Der Fall war präkomatös, *Kussmaul*sche Atmung schon angedeutet; der Blutzucker war sehr hoch über 0,4 Proz., die Alkalireserve sehr niedrig. Δ wurde hier mit $-0{,}625$ gemessen. Mit Ausnahme von Fall 4, der mittelschwer war, betrafen die pathologisch erhöhten Werte von Δ stets unbehandelte schwere Fälle. Es wurde bereits in der genannten früheren Arbeit über das Verhalten von Δ bei mit Insulin behandelten schweren Diabetesfällen berichtet und Resultate von Messungen mitgeteilt[1]). Es stellte sich dabei heraus, daß die Gefrierpunktserniedrigung, die ja von der Konzentration der gesamten in Lösung befindlichen Teile (Moleküle + Ionen) abhängt, einen Interferenzwert darstellt, der die Resultierende der verschiedenen unter Insulineinwirkung im Blute einhergehenden Vorgänge wie Änderungen im quantitativen Verhalten der verschiedenen Elektrolyte, in molekulardisperser Lösung befindlichen Stoffe (Zucker, Harnstoff usw.), des Wassergehalts usw. darstellt. Es ist daher verständlich, daß Δ bei starken Schwankungen der Blutkonzentration (z. B. bei Eintreten starker Blutverdünnung unter Insulineinwirkung) nur geringe oder gar keine Änderungen zu zeigen braucht, wenn sich gewisse osmotisch im hohen Grade aktive Elektrolyte in entgegengesetzter Richtung wie die anderen Blutbestandteile bewegen. Es wurde in der früheren Mitteilung darauf hingewiesen und Beispiele dafür angeführt, daß Δ als Ausdruck der gesamten Molekularkonzentration unverändert bleiben kann oder eine nur geringe Änderung zeigt, wenn beispielsweise unter Insulineinwirkung bei Abnahme der Blutkonzentration, also Zunahme des Wassergehalts des Blutes der Blutkochsalzgehalt gleichzeitig ansteigt. H_2O und NaCl bewegen sich ja bei solchen Änderungen meist gleichsinnig; es wird dann die durch die Blutverdünnung bewirkte Abnahme der Konzentration der gelösten Teile durch die Zunahme des Kochsalzgehalts kompensiert, so daß der osmotische Druck des Serums annähernd unverändert bleibt. Das NaCl gibt ja diesbezüglich im Blute den größten Ausschlag, da es der quantitativ in größter Menge im Blute vorkommende Elektrolyt ist. Die Kolloide beeinflussen ja den osmotischen Druck in unverhältnismäßig geringerem Grade und auch die in molekulardisperser Lösung befindlichen Stoffe Zucker, Harnstoff stehen diesbezüglich

[1]) Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **47**, 320, 1925.

hinter dem Kochsalz zurück. Die anderen Elektrolyte Ca-, K-Salze usw. sind in viel geringerer Quantität im Serum enthalten als Na Cl. Der osmotische Druck bleibt also leicht unverändert, wenn bei eintretender Wasserzunahme des Blutes auch das Kochsalz zunimmt und sich so quantitativ entgegengesetzt verhält, wie die Kolloide und die übrigen Kristalloide. Beobachtungen, die als Beispiele für dieses Verhalten gelten müssen, wurden bereits früher mitgeteilt. Ähnliches zeigen auch die vorliegenden Beobachtungen. Im allgemeinen wird Δ im Blute der schweren Diabetiker unter Insulinbehandlung kleiner, gegenüber den Werten, die vor der Insulinbehandlung gefunden werden, doch ist das Kleinerwerden von Δ im Verhältnis zu der starken Abnahme der Blutkonzentration unbedeutend. So ändert sich Δ bei Fall 1 auf der Höhe der Insulineinwirkung bei stärkster Wasseranreicherung des Blutes nur um 2 bis 3 Zentigrade gegenüber dem Wert, der vor der Insulinbehandlung gefunden wurde, während die T. S. um 4½ Proz., die E. Z. um 2½ Millionen abgenommen haben. Bei Fall 7 ist das Verhältnis ähnlich: Der Gefrierpunkt steigt um 4 Zentigrade, während die Erythrocyten um 2½ Millionen, die T. S. um 7 Proz. abgenommen hat! Ein ähnliches Verhalten von Δ bzw. seine Änderung unter Insulinbehandlung findet sich auch bei anderen schweren Fällen.

Bei Fall 2, bei welchem, wie bereits erwähnt, am gleichen Tage einmal nüchtern, ein zweites Mal 4 Stunden nach der ersten Insulininjektion — also auf der Höhe der Insulinwirkung — eine vollständige Blutuntersuchung vorgenommen worden war, zeigte Δ eine Änderung um 3 Zentigrade, der Gefrierpunkt stieg von —0,59 auf —0,56, trotz eintretender Bluteindickung, welch letztere wir bei allen schweren Fällen nach der ersten Insulininjektion eintreten sahen. Diese Verringerung der Molekularkonzentration nach der ersten Insulininjektion — eine solche Beobachtung wurde bereits früher mitgeteilt — erklärt sich wohl zum Teil aus dem starken Absinken des B. Z., teilweise trug auch die allerdings geringe Abnahme des Blutkochsalzgehalts, vielleicht auch noch die anderer Elektrolyte (Salze der Phosphorsäure?) dazu bei, vielleicht auch eine Abnahme der Substanzen des Restkohlenstoffs. Die Bluteindickung, die wohl vor allem in einer Zunahme des prozentuellen Gehalts an Kolloiden besteht, wird hier durch die gleichzeitige Abnahme der genannten gelösten, zum Teil osmotisch wirksamen Stoffe[1]) überkompensiert.

Unter länger dauernder Insulinbehandlung kann dann, wie die Zahlen in den Tabellen zeigen, die Gefrierpunktserniedrigung wieder größer werden. Bei den mittelschweren Diabetikern und Nichtdiabetikern ist die Änderung von Δ unter dem Einfluß der Insulineinwirkung keine typische, doch tritt auch hier die Tendenz zum Anstieg des Gefrierpunktes gegenüber der Zeit vor der Insulinbehandlung hervor, so z. B. bei Fall 4 und bei Fall 8.

Im allgemeinen kann man also sagen, daß wir *bei schweren Diabetesfällen häufig eine stärkere Gefrierpunktserniedrigung beobachten* können: In vier Fällen wurden Werte von unter —0,6°, in einem Falle (Fall 9) wurde —0,68° gemessen. *Diese pathologischen Werte für Δ sind wohl bedingt durch die Bluteindickung.* Dort, wo eine Hypochlorämie besteht, führen offenbar die Wasserverarmung des Blutes einerseits, die *Anhäufung* anderer *zum Teil in molekulardisperser Lösung befindliche Stoffe*, wie *Blutzucker*, Harnstoff, *Abbauprodukte von Fett* und Eiweiß, die Blutfette, die *Substanzen des Rest-*

[1]) Von diesen findet sich ein Teil, wie die anorganischen Salze, zum größten Teil in Ionen gespalten, die anderen Substanzen zumindest in molekulardisperser Lösung im Blute.

kohlenstoffs, die um ein Vielfaches enorm erhöht gefunden werden, andererseits zu einer Zunahme der gesamten Molekularkonzentration (Konzentration von Molekülen + Ionen). *Unter Insulinbehandlung findet dann eine mäßiggradige Abnahme von Δ (Ansteigen des Gefrierpunkts* — der Nüchternwerte!) *statt.* Diese geringe Änderung von Δ wird bedingt durch *teilweise Abnahme jener beim schweren Diabetiker im Blute angehäuften Stoffe*, wie sie unter Insulinwirkung eintritt. Es kommt dabei weniger der B. Z. in Betracht, der auch bei mit Insulin behandelten Diabetesfällen im Nüchternzustand, wie ein Blick auf die Zahlen in der Tabelle zeigt, oft noch recht hoch ist, als vielmehr jene genannten Abbauprodukte der Fette, Kohlehydrate (Substanzen des Restkohlenstoffs, Fettsäuren, Ketonkörper u. a.), vielleicht auch Abbauprodukte des Eiweißes, die unter Insulinbehandlung im Blute stark abnehmen bzw. verschwinden. *Die mit der Blutverdünnung oft gleichzeitig eintretende Anreicherung des Blutes mit Kochsalz wirkt in bezug auf die Erhaltung der Gesamtmolekularkonzentration bzw. des osmotischen Druckes der Annahme jener genannten Substanzen entgegen, so daß die Änderung von Δ sich innerhalb mäßiger Grenzen hält.* Bei weiterer Insulinbehandlung sinkt der Gefrierpunkt des Serums häufig wieder etwas ab.

Die *Viskosität des Serums* und die *Oberflächenspannung* desselben bzw. deren reziproker Wert, die stalagmometrisch ermittelte Tropfenzahl zeigen bei schweren Diabetesfällen unter Insulineinwirkung ganz charakteristische Änderungen. Die *Viskosität* zeigt in fast allen Fällen *unter Insulinbehandlung eine Abnahme* gegenüber der Zeit vor der Behandlung, die *Oberflächenspannung* fast *ausnahmslos eine Zunahme (Abnahme der Tropfenzahl).* Da sowohl Viskosität als auch Oberflächenspannung mit den Eigenschaften der Kolloide: Dispersitätsgrad, Hydratation usw., in inniger Beziehung stehen und da solche Eigenschaften bei den Emulsionskolloiden weitgehend abhängig sind von der physikalisch-chemischen Beschaffenheit ihres Milieus, wie vom H—OH-Ionengehalt, vom Gehalt des Lösungsmittels an Kationen und Anionen — im schwach alkalisch reagierenden Blute von den Kationen mehr als von den Anionen —, so liegt die Annahme nahe, daß die unter Insulinbehandlung eintretende Abnahme der Viskosität und die gleichzeitige Zunahme der Oberflächenspannung die gleiche Ursache haben, welche eben in einer unter der Insulineinwirkung vor sich gehenden Änderung der physikalisch-chemischen Eigenschaften des Blutes zu suchen ist. Auch sonst bewegen sich ja Viskosität und Oberflächenspannung kolloidaler Lösungen in entgegengesetzter Richtung (siehe bei *Höber* und bei *Schade*[1]). Die Emulsionskolloide beeinflussen ja in weitgehendem Grade je nach ihrer „Kolloidität" (wie Hydratationsgrad usw.) die Viskosität und die Oberflächenspannung ihrer Lösungen. Die Zahlen in den Tabellen zeigen, daß die Viskosität des Serums bei den schweren unbehandelten Diabetesfällen relativ hoch ist, die Oberflächenspannung aber oft ganz bedeutend herabgesetzt ist. So finden wir stalagmometrische Werte, z. B. bei Fall 1 von 120, bei Fall 7 von 114! Als normal gelten für das Serum die Werte 109 bis 112 Normaltropfen (*Traube*). Bei Fall 1, 3, bei Fall 8 und 9 zeigt die Serumviskosität recht hohe Werte. Offenbar bewirken gewisse im Serum des unbehandelten Diabetikers angehäufte Stoffe durch ihren Einfluß auf den Kolloidzustand der Serumeiweißkörper gleichzeitig eine Herabsetzung der Oberflächenspannung und eine Erhöhung der Viskosität. Es kommen hier in Betracht eine Änderung

[1]) *R. Höber*, Physik. Chem. d. Zelle u. Gewebe 1922, S. 246; *H. Schade* Physik. Chem. in d. inn. Med. 1923, S. 198.

im Kationengehalt des Serums, eine Vermehrung oberflächenaktiver Substanzen, von Abbauprodukten der Fette und des Eiweißes; vielleicht sind diese Substanzen zum Teil identisch mit den Stoffen des Restkohlenstoffs. Es soll hier auch darauf hingewiesen werden, daß auch von anderer Seite, *H. Pribram* und Mitarbeitern, die Oberflächenspannung herabsetzende Stoffe (Eiweißabbauprodukte?) im Harn und Serum schwerer Diabetiker nachgewiesen wurden. Eine Parallele zu Änderung der Alkalireserve besteht nur im allgemeinen, wie wir in zwei Fällen beobachten konnten[1]). Unter Insulinbehandlung verschwinden offenbar jene genannten, den Kolloidzustand der Serumeiweißkörper beeinflussenden Substanzen mehr oder weniger aus dem Blute oder werden auf ihre normale Menge reduziert, womit die Änderung von Oberflächenspannung und Viskosität herbeigeführt wird. Die oft sehr niedrige Viskosität des Serums, die relativ hohe Oberflächenspannung (geringe Tropfenzahl) desselben, wie sie bei unter länger dauernder Insulinbehandlung stehenden Diabetikern beobachtet wird, sind vielleicht zum Teil auf die starke Wasseranreicherung des Blutes zurückzuführen. So findet sich bei Fall 1 auf der Höhe der Insulinbehandlung bei starker Wasseranreicherung des Blutes (T. S. = 15,9 Proz.!) eine Viskosität von nur 1,43; einige Zeit vorher bei einer T. S. von etwa 16 Proz. eine Tropfenzahl von nur 106,5. Bei Fall 5 beträgt nach viertägiger Insulinbehandlung bei einem T. S.-Gehalt des Blutes von 18 Proz. die Tropfenzahl des Serums 106,8, die Serumviskosität nur 1,33.

Ähnlich niedrige Werte für die Viskosität und hohe Werte für die Oberflächenspannung im Zeitpunkt größter Wasseranreicherung des Blutserums wurden bei den anderen schweren mit Insulin behandelten Diabetesfällen beobachtet. Dauert die Insulinbehandlung länger an, so kann, wie die Zahlen in den Tabellen zeigen, die Viskosität wieder etwas zu, die Oberflächenspannung wieder etwas abnehmen: doch werden die Werte, die vor der Insulinbehandlung beobachtet wurden, nicht erreicht. Bei leichten Diabetesfällen und bei Nichtdiabetikern zeigen Viskosität und Oberflächenspannung des Serums unter Insulinbehandlung keine derartig charakteristische Änderung.

Wie aus den früheren und den vorliegenden Untersuchungen hervorgeht, läßt die unter Insulinwirkung eintretende Änderung der Blutbeschaffenheit *schwerer* Diabetesfälle ganz deutlich drei Phasen erkennen.

Die erste Phase, die die unmittelbare Wirkung der ersten Injektionen betrifft, ist charakterisiert durch den Eintritt einer Bluteindickung und durch Abnahme des Blutkochsalzgehalts, durch Abstrom von Wasser und Salz aus dem Blute ins Gewebe (Anstieg von Erythrocyten, Trockensubstanz und Serumeiweißgehalt). Es ist wahrscheinlich, daß auch später bei länger dauernder Insulinbehandlung unmittelbar nach jeder Insulininjektion diese Wirkung des Insulins auf den intermediären Wasser- und Salzwechsel eintritt [*Staub*[2])]. Doch ist diese erste Phase

[1]) Fall 2 und 7.

[2]) *Staub*, der unseren Befund des Eintritts einer Bluteindickung nach Insulininjektion beim Diabetes mel. bestätigt, fand diese Erscheinung auch späterhin *unmittelbar* nach jeder neuerlichen Insulininjektion. Auch wir sahen das Gleiche. Nur wird diese *vorübergehende* Bluteindickung mit der nach längerdauernder Insulinbehandlung eintretenden Wasseranreicherung der Gewebe und des Blutes immer weniger deutlich.

der Insulinwirkung, wie wir uns überzeugen konnten, meist nur nach den ersten Injektionen so deutlich ausgesprochen.

Die zweite Phase der Insulinwirkung betrifft das Absinken der *Nüchternwerte* und Tagesmittelwerte der Blutkonzentration (Absinken der Erythrocyten, des Serumeiweißgehalts und der Trockensubstanz) nach länger andauernder Insulinbehandlung gegenüber den Nüchternwerten vor der Behandlung. Gleichzeitig erfolgt fast stets ein Anstieg des Blutkochsalzgehalts. Die Gefrierpunktserniedrigung wird meist etwas kleiner. Die NaCl-Zunahme im Blute kompensiert diesbezüglich zum größten Teile die Abnahme der übrigen gelösten Substanzen. Die Serumviskosität nimmt in dieser Phase ab, die Oberflächenspannung des Serums zu. Die Änderung der Blutbeschaffenheit ist in dieser Phase um so größer, je größer die Insulindosis, je schwerer der Diabetes, je größer die Polyurie und die Wasserverarmung des Organismus in der Periode vor der Insulinbehandlung ist. Sie ist besonders groß bei Fällen, die im Stadium der Acidämie, des Koma oder Präkoma in Behandlung kommen. Doch besteht kein strenger Parallelismus zwischen der geschilderten Änderung der Blutbeschaffenheit und dem Grade der Änderung der Alkalireserve des Blutes. Das Verhalten von Trockensubstanz, Erythrocyten, Serumeiweißgehalt und zum Teil auch das der Gefrierpunktserniedrigung zeigen direkt die Blutverwässerung an. Die Änderung von Viskosität und Oberflächenspannung des Serums hängen aber wohl auch zum Teil mit der unter Insulinwirkung eintretenden Änderung im Kolloidzustand der Serumeiweißkörper zusammen.

In der dritten Phase der Insulineinwirkung nach noch weiter anhaltender Insulinbehandlung geht die Wasseranreicherung des Blutes wieder zurück. Auch die Viskosität des Serums nimmt wieder zu und die Oberflächenspannung ab. Die Eigenschaften des Blutes nähern sich der Norm. Vielleicht entspricht diese Phase der Änderung der Blutbeschaffenheit der Phase der Insulinwirkung, in welcher die elektive Wasserretention geringer wird und mehr der Ansatz von Körpersubstanz (Eiweiß und Fett) überwiegt.

Diese geschilderte, in einzelnen Phasen unter Insulineinwirkung fast gesetzmäßig erfolgende Änderung der Blutbeschaffenheit ist nur bei schweren Fällen und hoher Dosierung des Insulins deutlich ausgesprochen. Bei leichten Fällen und Nichtdiabetikern, sowie bei geringer Dosierung des ersten sind die Änderungen viel weniger deutlich und lassen oft jede Gesetzmäßigkeit vermissen.

Frl. cand. med. *V. Grömer* danke ich an dieser Stelle bestens für ihre freundliche Mithilfe bei dieser Arbeit.

Datum	Insulinbehandlung	Körpergewicht kg	B. Z. Proz.	E. Z.	Ser.-Eiw. Proz.	Δ °C	NaCl mg-Proz.	Z	η	T. S. Proz.	Bemerkungen
1. *D.* Diabetes (schwerer Fall).											
30. X.	Vor Insulin	50,7	0,261	5 165 000	9,350	— 0,58	443,40	120,0	2,40	20,38	Ketonurie, präkomat.
3. XI.		51,2	0,194	5 100 000	8,708	— 0,56	485,81	112,3	2,20	17,82	"
12. XI.	Seit 9. XI. 55 Einh. Insulin*) pro die	54,5	0,290	3 665 000	7,416	— 0,54	496,67	106,5	1,70	16,09	Keine Ketonkörper
19. XI.		53,8	0,336	3 810 000	7,632	— 0,55	437,10	110,7	1,43	15,90	" "
28. XI.		56,3	0,150	3 755 000	8,280	— 0,57	432,16	107,1	1,57	17,44	" "

*) Insulin *Burroughs* Wellcome und Norgine.
Abkürzungen: B. Z. = Blutzucker, E. Z. = Erythrocytenzahl, Ser.-Eiw. = Serumeiweißgehalt, Z = Tropfenzahl, η = Viskosität (η von Wasser = 1), T. S. = Trockensubstanz des Gesamtblutes.

2. *S.* Diabetes (schwerer Fall).											
17. XII.	Vor Insulin	58,9	0,307	5 510 000	7,848	— 0,59	425,45	112,7	1,68	20,69	Ketonurie
17. XII.**)	4 Std. nach Insulininj. *)	—	0,080	5 800 000	8,280	— 0,56	401,84	113,8	1,48	21,61	"
28. XII.	Seit 18. XII. 40 bis 50 Einh. Insulin tägl.	63,8	0,243	4 885 000	7,536	— 0,56	424,62	—	1,66	19,49	Keine Ketonkörper
2. I.		64,0	0,245	4 410 000	7,084	— 0,61	512,42	—	2,00	19,59	" "
15. I.		67,5	0,243	3 965 000	7,496	— 0,60	486,16	112,5	1,74	19,73	" "

*) Patient blieb weiter nüchtern. Insulindosis: 40 Einheiten (*Burroughs* Wellcome). — **) Es fanden hier demnach zwei Bestimmungen an einem Tage statt (*vor* und *nach* der ersten Insulininjektion! Der zweite Wert am 17. XII. fällt somit in gewissem Sinne aus der Serie heraus!

3. *K.* Diabetes (schwerer Fall)											
24. X.	Vor Insulin	53,5	0,219	5 135 000	6,768	— 0,58	397,00	108,45	2,00	20,94	Ketonurie
29. X		55,0	0,269	5 720 000	6,336	— 0,61	474,40	110,20	1,90	20,51	"
4. XI.	Ab 27. X. 50 bis 60 Einh. Insulin *) täglich	59,5	0,232	4 330 000	6,552	— 0,56	504,60	111,00	1,70	19,64	Keine Ketonkörper
12. XI.**)		60,2	0,210	4 170 000	6,828	—	488,76	—	—	17,63	
14. XI.		58,5	0,242	5 200 000	7,632	— 0,58	373,38	107,20	1,66	20,00	
16. XI.		—	—	5 315 000	7,200	—	504,66	—	—	18,09	
17. XI.		60,3	0,246	4 720 000	6,984	—	502,40	—	—	18,27	
23. XI.		61,0	0,216	4 570 000	6,984	—	494,46	108,50	1,48	19,55	

*) Insulin zum Teil *Burroughs* Wellcome, zum Teil Norgine (nach Prof. *Wiechowski*). — **) Bis 12. XI. Kost von mittlerem NaCl-Gehalt (12 bis 15 g), vom 12. XI. bis 15. XI. Kost von niedrigem NaCl-Gehalt (3 bis 4 g), ab 15. XI. Kost von hohem NaCl-Gehalt (20 bis 22 g).

Datum	Insulinbehandlung	Körpergewicht kg	B. Z. Proz.	E. Z.	Ser.-Eiw. Proz.	Δ °C	NaCl mg-Proz.	Z	η	T. S. Proz.	Bemerkungen
				4. *V.* Diabetes (mittelschwerer Fall).							
22. X.	Vor Insulin	51,6	0,174	5 385 000	7,416	— 0,60	428,23	108,6	1,55	19,55	Keine Ketonurie
3. XI.	Seit 25. X. 40 bis 50 Einh. Insulin *) täglich	53,6	0,199	4 395 000	8,280	— 0,55	463,60	107,7	2,00	19,62	
12. XI. **)		54,5	0,250	4 310 000	8,554	—	469,05	—	—	—	
14. XI.		55,0	0,200	5 020 000	6,120	— 0,57	396,40	107,4	2,22	18,72	
16. XI.		55,0	—	5 350 000	8,420	—	422,50	—	—	19,18	
17. XI.		55,9	0,294	4 780 000	8,280	—	522,72	—	—	19·06	
23. XI.		56,5	0,154	4 640 000	8,064	— 0,60	511,44	107,3	1,48	18,16	

*) Insulin Norgine. — **) Bis zum 12. XI. Kost von mittlerem NaCl-Gehalt (12 bis 15 g), vom 12. XI. bis zum 15. XI. Kost von niederem NaCl-Gehalt (3 bis 4 g), ab 16. XI. Kost von hohem NaCl-Gehalt (20 bis 22 g).

				5. *S.* Diabetes (schwerer Fall).							
15. X.	Vor Insulin	58,0	0,193	4 840 000	7,336	— 0,570	363,40	108,4	1,53	19,25	Ketonurie
20. X.	Ab 18. X. 60 bis 70 Einh. Insulin pro Tag	61,5	0,242	4 180 000	5,764	— 0,580	443,40	106,8	1,33	18,20	Keine Ketonkörper
31. X.		63,0	0,203	3 890 000	6,120	— 0,540	479,90	109,5	1,40	18,45	" "
6. XI.		61,2	0,166	4 250 000	6,828	— 0,560	—	109,5	1,48	—	" "
19. XI.		62,8	0,251	5 395 000	6,848	— 0,555	478,10	107,4	1,60	18,55	" "
21. XI.		—	0,152	4 570 000	6,768	—	434,25	107,2	1,60	18,81	" "
				6. *St.* Diabetes (leichter Fall).							
19. XI.	Vor Insulin	56,3	0,292	4 940 000	6,612	— 0,555	460,46	107,8	2,00	19,01	
1. XII.		56,0	0,192	5 470 000	7,410	— 0,545	402,18	110,8	1,73	20,54	
9. XII.	ab 4. XII. 40 E. Insulin tgl.	56,1	0,154	4 566 000	7,642	— 0,580	458,51	112,5	1,40	20,91	
				7. *C.* Diabetes (schwerer Fall, präkomatös).							
19. I.	Vor Insulin	55,7	0,408	5 330 000	8,494	— 0,625	496,5	114,5	1,54	22,8	Starke Ketonurie, präkomatös
21. I.	Ab 20. I. 80 bis 100 Einh. Insulin täglich	57,3	0,209	4 160 000	6,880	— 0,600	527,4	110,9	1,44	20,4	Alkalireserve des Blutes: 27,0
23. I.		61,2	0,305	4 290 000	6,336	— 0,595	497,2	110,9	1,48	16,8	Keine Ketonurie
26. I.		60,6	0,284	3 870 000	6,336	— 0,575	522,0	111,5	—	16,0	
29. I.		61,4	0,212	3 780 000	6,450	— 0,600	534,3	112,0	1,54	—	
2. II.		62,1	0,148	3 810 000	5,902	— 0,580	511,0	110,6	1,44	17,8	

Datum	Insulinbehandlung	Körpergewicht kg	B. Z. Proz.	E. Z.	Ser.-Eiw. Proz.	Δ °C	NaCl mg-Proz.	Z	η	T. S. Proz.	Bemerkungen
				8. *M.* Diabetes (mittelschwer).							
1. XI.	Vor Insulin	70,0	0,289	4 900 000	8,494	— 0,580	510,68	112,3	2,00	—	
5. XI.	Ab 3. XI. 50 bis	70,0	0,168	4 250 000	7,000	— 0,545	578,27	107,8	1,73	19,21	
18. XI.	60 Einh. Insulin tägl.	71,0	0,254	4 295 000	7,416	— 0,595	489,06	107,8	1,43	18,65	
				9. *S.* Diabetes (Coma diabet.)							
3. I.	Stadium comatosum	—	0,557	5 780 000	9,470	— 0,680	503,67	116,5	2,50	21,93	Ketonurie, Alkalireserve: 20,2
				10. *F.* Diabetes (mittelschwer).							
5. XII.	Vor Insulin	50,0	0,238	4 865 000	7,632	— 0,580	471,57	107,8	1,90	21,95	
13. XII.	Seit 6. XII. 30 Einh. Insulin täglich	53,2	0,186	4 670 000	8,064	— 0,570	530,19	113,0	1,62	19,18	
				11. *Ma.* Tbc. der Lunge.							
9. XI.	Vor Insulin	42,4	0,079	5 240 000	7,848	— 0,550	494,20	109,9	2,66	20,55	
21. XI.	Ab 11. XI. 60 Einh.	44,2	0,092	5 610 000	7,842	— 0,590	434,89	111,2	1,53	18,88	
1. XII.	Insulin täglich	45,4	0,088	5 045 000	7,842	— 0,555	451,64	—	1,60	—	
				12 *T.* Tbc. pulm.							
21. XII.	Vor Insulin	60,8	0,082	6 050 000	7,848	— 0,560	522,43	115,6	1,66	18,56	
28. XII.	Seit 21. XII. 60 Einh.	62,6	0,074	5 665 000	—	— 0,565	502,76	—	1,61	19,54	
2. I.	Insulin täglich	64,3	0,097	4 900 000	7,868	— 0,580	481,12	113,3	1,90	17,79	

Refraktometrische Studien über den Abbau fötaler Organproteine.

Von

Oskar Kanner[1]).

(Eingegangen am 19. Februar 1926.)

Nachdem der Einfluß des Serums auf Carcinomzellen ursprünglich durch *Freund* und *Kaminer* mikroskopisch und durch *Neuberg* mittels N-Bestimmung der Eiweißabbauprodukte erwiesen war, hat das Studium der Serumeinwirkung auf Zellenmaterial durch *Abderhalden* als „*Abderhalden*sche Abbaureaktion" allgemeine Bedeutung gewonnen.

Die *Abderhalden*sche Reaktion hat im Laufe der Zeit eine größere Reihe von Veränderungen durchgemacht; an die Stelle der Dialyse wurde die Enteiweißung gestellt (*Freund-Kaminer*, Gynäk. Kongreß 1913), an Stelle des feuchten Zellmaterials nach *Pregl* entfettetes Material und statt der Ninhydrinreaktion die refraktometrische Ablesung.

Die Nachuntersuchung des Serums bei Carcinom nach der *Freund-Kaminer* und der *Abderhalden*schen Reaktion hat nun in Bestätigung der ursprünglichen Angaben doch scheinbar widersprechende Verhältnisse festgestellt.

Nach *Freund-Kaminer* fehlt im Carcinomserum die im Normalserum vorhandene Carcinomzellen zerstörende Substanz, und es ist sogar eine Carcinomzellen erhaltende vorhanden, nach *Abderhalden* baut aber das Carcinomserum Carcinomzellen ab.

Den Schlüssel zur Aufklärung dieses scheinbaren Paradoxon hat *Freund* geliefert, indem er darauf hinwies, daß bei der *Freund-Kaminer*-Probe *natives* Zellmaterial, bei der *Abderhalden*-Probe aber *gekochtes* Zellmaterial verwendet wird, und nachweisen konnte, daß Carcinomserum *native* Carcinomzellen schützte, aber gekochte Carcinomzellen löste.

Die Substanz, die bei der *Abderhalden*schen Reaktion abbaut, ist dieselbe, die native Carcinomzellen vor Zerstörung durch Normalserum schützt. Für die Identität der Substanz spricht auch, daß beide Wirkungen an das Nucleoglobulin des Carcinomserums gebunden sind.

Daraus ergibt sich, daß nur die cytolytische Reaktion ein Bild der wirklichen Vorzüge im Körper gibt.

---

[1]) Diese Arbeit wurde auf der Prosektur der Krankenanstalt Rudolfsstiftung (Vorstand weiland Hofrat *Paltauf*) ausgeführt.

Das Fehlen der Normalsubstanz ist nicht das Charakteristische des Carcinomserums, sondern nur ein Teilfaktor, eine Vorbedingung; nach Untersuchungen von *Kaminer* nimmt die zerstörende Fähigkeit des Normalserums mit zunehmendem Alter konstant ab, um im Greisenalter sogar unter die Norm des Erwachsenen abzusinken, was mit der Altersdisposition für Carcinom in gutem Einklang steht. Das für das Carcinom Wesentliche, das Charakteristische ist aber erst das Auftreten der die Carcinomzellen schützenden Substanz, die zugleich die *Abderhalden*sche Reaktion gibt[1]).

Es schien von Interesse, nachzusehen, ob es außer dem Carcinomprotein noch andere Eiweißarten gibt, die gegenüber dem Serum Krebskranker die gleiche spezifische Abbaufähigkeit besitzen. Vielfach wurden Parallelen gezogen zwischen Tumorkranken und Graviden, das selbständige, in sich abgeschlossene Wachstum des Embryo könnte mit dem Wachstum einer Geschwulst verglichen werden, ja sogar mit dem einer bösartigen Geschwulst, wenn man an das infiltrierende Wachstum des Chorions in die Uterusschleimhaut denkt. Dazu kommen noch die Analogien im Stoffwechsel Schwangerer und Carcinomkranker, wie das Verhalten bei der Kobragifthämolyse, der vermehrte Antitrypsingehalt des Blutes, die Lipämie und gewisse morphologische Veränderungen an Nebennieren, Schilddrüse und Hypophyse. In diesem Sinne haben *Kraus* und *Ishiwara* das Verhalten von Embryonalzellen und Carcinomzellen in bezug auf das Serum Normaler und Carcinomkranker untersucht. Sie verwendeten dazu die Methode von *Freund* und *Kaminer* und fanden bei dieser Arbeitsweise Analogien und eine Verschiedenheit: 1. Embryonalzellen (Leber) werden vom Serum Nichtcarcinomatöser ebenso gelöst wie Carcinomzellen. Im Gegensatz dazu stehen die Zellen Erwachsener. 2. Embryonalzellen werden vom fötalen Serum ebensowenig gelöst wie Carcinomzellen. 3. Das Serum Carcinomkranker, das nicht imstande ist, Carcinomzellen aufzulösen, löst embryonale Zellen sowie das Serum eines Nichtcarcinomatösen.

Da nun das Verhalten embryonaler Gewebe im Vergleich zum Krebsgewebe bisher nur mit Anwendung der cytolytischen Reaktion untersucht worden ist, bei der ja das eigentlich für das Carcinom charakteristische Agens nicht mitwirkt, war es von Interesse, die *Abderhalden*sche Reaktion dafür in Anwendung zu bringen. Die

[1]) Bei diesem Sachverhalt erscheint es unberechtigt, wenn *Sellheim* die Hoffnung ausspricht, mit Hilfe der bei der *Abderhalden*schen Reaktion tätigen Stoffe auch therapeutisch wirken zu wollen. Es erschiene aussichtsreicher mit dem zellzerstörenden Agens des Normalserums zu arbeiten, könnte diese Substanz ja die Ursache einer therapeutischen Wirkung sein, die nicht nur in alter Zeit von Transfusionen behauptet wurden, sondern auch in neuerer Zeit von *Bier* und *Beebe* angegeben wurden.

folgenden Untersuchungen sind nach der Mikro-Abderhaldenmethode von *Pregl* und *de Crinis* mit Hilfe des *Pulfrich*schen Eintauchrefraktometers ausgeführt worden. Das embryonale Material wurde aus der Leber eines sechsmonatlichen Fötus gewonnen. Zur Untersuchung gelangten Sera Carcinomatöser, Nichtcarcinomatöser (insbesondere Kachektischer), Gravider und Neugeborener.

Es wurde darauf verzichtet, aus den abgelesenen Werten der Refraktometerskala den wirklichen Brechungsexponenten mit Hilfe der Tabellen zu bestimmen, da es ja nur auf eine Differenz der Refraktion ankam, die sich ebensogut in Skalenteilen ausdrücken ließ. Somit konnte auch darauf verzichtet werden, die Ablesungen stets bei einer Temperatur von 17,5° C vorzunehmen. Es genügte, die bei der ersten Ablesung herrschende Temperatur festzustellen und bei der zweiten Ablesung dieselbe Temperatur wieder herzustellen.

Das Blut wurde nüchternen Patienten durch Venenpunktion entnommen, hierauf zwecks Vermeidung von Nachgerinnung 24 Stunden im Eisschrank aufbewahrt. Im übrigen wurden die Originalvorschriften von *Pregl* und *de Crinis* genau befolgt.

I. Nichtkachektische Nichtcarcinomatöse.

Tabelle I.

Nichtkachektische Nichtcarcinomatöse.

Nr.		Anfangswert	Nach 24 Stdn.	Differenz in Hundertstel Skalenteilen
1	Gonorrhoe	60,10	60,10	0
2	„	57,45	57,50	+ 0,05
3	„	58,15	58,15	0
4	Sec. Lues	56,20	56,30	+ 0,10
5	„ „	54,90	54,90	0
6	„ „	56,80	56,75	— 0,05
7	„ „	60,20	60,10	— 0,10
8	Myxödem	56,30	56,30	0
9	Ulcus ventric.	52,50	52,50	0
10	„ „	54,65	54,60	— 0,05

Aus Tabelle I geht hervor, daß die Sera nichtcarcinomatöser Nichtkachektischer nicht imstande waren, das embryonale Leberprotein abzubauen. Die kleinen Differenzen entsprechen wohl der Fehlerbreite.

Zehntel-Skalenteile können beim *Pulfrich*schen Eintauchrefraktometer mit Hilfe des Nonius noch abgelesen werden. Die Hundertstel werden geschätzt. Zeigte nun die Bestimmung einen Wert an, der sich zwischen zwei Teilstrichen des Nonius, etwa gleich weit von jedem befand, so schien es praktisch, dies als fünf Hundertstel in Rechnung zu setzen; war dies nicht der Fall, so mußte man den dem wahren Wert näherliegenden Teilstrich zur Messung heranzuziehen. So erklären sich die kleinen Differenzen in Tabelle I.

II. Kachektische Carcinomkranke.

Mit Ausnahme der in der Tabelle I angeführten Untersuchungen habe ich stets Doppelbestimmungen vorgenommen, um auf diese Weise akzidentelle Fehler zu vermeiden. Nur in zwei Fällen erhielt ich widersprechende Resultate, die das eine Mal auf bakterieller Verunreinigung beruhten, während für das zweite Mal die Verursachung nicht gefunden werden konnte. Diese beiden Fälle wurden ausgeschieden. Die Richtigkeit der Diagnose Carcinom ist in jedem einzelnen Falle durch Probeexzision, Operation oder Obduktion festgestellt worden.

Tabelle II.

Kachektische Carcinomkranke.

Nr.		Anfangswert	Nach 24 Stdn.	Differenz in Hundertstel Skalenteilen
1	Mammae ..... a)	59,80	60,10	+ 0,30
	b)	59,50	59,85	+ 0,35
2	Ventriculi ..... a)	49,50	49,95	+ 0,45
	b)	50,00	50,45	+ 0,45
3	„ ..... a)	62,90	63,25	+ 0,35
	b)	62,70	63,10	+ 0,40
4	„ ..... a)	49,40	49,75	+ 0,35
	b)	49,50	49,85	+ 0,35
5	„ ..... a)	53,05	53,50	+ 0,45
	b)	53,10	53,50	+ 0,40
6	Pancreatis ..... a)	49,70	50,05	+ 0,30
	b)	49,70	50,00	+ 0,30
7	Recti ..... a)	55,65	55,95	+ 0,30
	b)	55,40	55,75	+ 0,35
8	Lupuscarzinom a)	51,40	51,70	+ 0,30
	b)	51,40	51,70	+ 0,30
9	Intestini crassi a)	52,55	52,90	+ 0,35
	b)	52,80	53,10	+ 0,30
10	Peritonei ..... a)	49,00	49,70	+ 0,70
	b)	49,60	50,20	+ 0,60

Tabelle II zeigt, daß alle zur Untersuchung gelangten Sera *kachektischer* Carcinomkranker das angebotene fötale Leberprotein abgebaut haben. Die beim gleichen Fall vorhandenen Differenzen bei der ersten Ablesung beruhen auf Fehlern der Technik und haben für den Ausfall der Reaktion keine Bedeutung. Das Organprotein wird nämlich mit physiologischer Kochsalzlösung zum Quellen gebracht. Nach einer Stunde wird die Kochsalzlösung abgesaugt und das Serum hinzugefügt. Von der Gleichmäßigkeit, mit der die Entfernung der Kochsalzlösung gelingt, hängt der refraktometrische Ausgangswert ab. Für die Beurteilung der Reaktion ist nur die Differenz gegen die zweite Ablesung nach 24 Stunden von Belang.

III. Nichtkachektische Carcinomkranke.

Tabelle III.

Nichtkachektische Carcinomkranke.

Nr.		Anfangswert	Nach 24 Stdn.	Differenz in Hundertstel Skalenteilen
1	Baseos linguae . . { a)	57,20	57,20	0
	{ b)	56,80	56,85	+ 0,05
2	Bronchi . . . . . { a)	62,25	62,25	0
	{ b)	61,20	61,20	0
3	Ventriculi . . . . . { a)	53,20	53,20	0
	{ b)	53,70	53,70	0

Die Tabelle III zeigt, daß in drei Fällen von Carcinom, bei denen *keine Kachexie* vorhanden war, der Abbau im Gegensatz zu den zehn Fällen der Tabelle II, wo jedesmal Kachexie vorhanden war, ausblieb.

IV. Nichtcarcinomatöse Kachektische.

Tabelle IV.

Nichtcarcinomatöse Kachektische.

Nr.		Anfangswert	Nach 24 Stdn.	Differenz in Hundertstel Skalenteilen
1	Pericarditis . . . . { a)	57,75	58,15	+ 0,40
	{ b)	57,60	58,05	+ 0,45
2	Tuberculosis pul- { a)	51,30	51,60	+ 0,30
	mon. { b)	50,45	50,75	+ 0,30

In der Tabelle IV figurieren bloß zwei Fälle. Während bei den Carcinomfällen die Diagnose autoptisch sichergestellt war, wurde in diesen zwei Fällen die Abwesenheit eines Carcinoms nur klinisch erschlossen.

De Crinis und *Mahnert* haben die Abbaufähigkeit von Lebergewebe Erwachsener refraktometrisch untersucht. Dabei kamen sie zu folgenden Ergebnissen: „In allen Fällen von Carcinom mit gleichzeitiger Kachexie fand sich Abbau von Lebereiweiß. In jenen Fällen, in welchen klinisch eine Kachexie nicht vorhanden war, fehlte auch der Abbau von Lebereiweiß. Abbau von Lebereiweiß fand sich auch in den untersuchten Kontrollfällen von Kachexie auf andersartiger, auch nicht tumoröser Grundlage."

Somit kann ich zusammenfassend sagen: *Embryonales Lebergewebe verhält sich bei der Abderhaldenschen Reaktion genau so wie das Lebergewebe Erwachsener. Es zeigt die gleiche Abbaufähigkeit gegenüber dem Serum Kachektischer wie das gereifte, ohne im mindesten eine für das Krebseiweiß charakteristische Eigenschaft zu besitzen.*

Diese Feststellungen haben vielleicht noch auf einem anderen Gebiet ein gewisses Interesse. Man spricht vielfach von einer physiologischen Unreife der Leber des Neugeborenen und hat auch versucht, diese Annahme zur Erklärung des Ikterus neonatorum heranzuziehen. Meine Untersuchungen

sprechen nicht für diese Unreife, da sich ja das embryonale Lebereiweiß von dem „reifen" in nichts unterschieden hat und das gleiche eigentümliche Verhalten gegenüber dem Serum Kachektischer gezeigt hat. Man muß jedoch zugeben, daß ein Unterschied vorhanden ist, der ja in der erwähnten Arbeit von *Kraus* und *Ishiwara* zutage getreten ist, indem Normalserum embryonale *native* Leberzellen löst, während die Zellen Erwachsener nicht gelöst werden.

Ich habe auch andere fötale Gewebe in den Rahmen der Untersuchung einbezogen, nämlich Niere, Mamma und Magen. Dabei hat sich in keinem Falle, mit keinem Serum ein Abbau gezeigt. Die Sera Schwangerer (Mitte und Ende der Schwangerschaft) zeigten gegen embryonales Gewebe, sei es Leber, Niere, Mamma oder Magen keine Abbaufähigkeit. Ebensowenig Nabelschnurblut.

Zum Schluß sei es gestattet, einige Details technischer Natur hervorzuheben. Bei der Reaktion kommt es nicht allein auf steriles Arbeiten an (bakterielle Verunreinigungen können die Beurteilung der Reaktion verhindern), sondern auch auf chemische Reinlichkeit. Die Röhrchen, in denen sich die Reaktion zwischen Serum und Organpulver abspielt, wurden nach dem gewöhnlichen Waschen mit Schwefelsäure-Kaliumbichromat gereinigt, dann gründlich mit Leitungswasser und destilliertem Wasser gespült und staubgeschützt getrocknet. Das gewöhnliche Kochsalz ist nicht hinlänglich rein. Es empfiehlt sich, Analysenkochsalz zu verwenden. Die Außerachtlassung dieser Regeln führt zu Fehlresultaten. So fanden *Koritschoner* und *Morgenstern*, daß Serum allein beim Stehen seinen Brechungsexponenten ändern könne; manche Sera erniedrigten ihren Wert, manche erhöhten ihn, bei anderen wieder blieb er unverändert. Deshalb müsse man eine Änderung des Serums gesondert bestimmen und beim Gesamtresultat ins Kalkül ziehen. Im Gegensatz dazu geben *Pregl* und *de Crinis* an, daß eine solche Veränderung nicht stattfinde. Es ist mir gelungen, die Befunde von *Koritschoner* und *Morgenstern* zu reproduzieren, wenn ich auf eine gründliche Reinigung der Röhrchen verzichtete; tat ich das nicht, stimmten meine Ergebnisse in mehr als 30 Fällen mit den Angaben von *Pregl* und *de Crinis* überein. *Koritschoner* und *Morgenstern* haben mit nativen Zellen gearbeitet und den Ausfall der *Freund-Kaminer*schen Reaktion refraktometrisch zu bestimmen versucht. Dabei fanden sie, daß sich der Brechungsexponent des Systems Zellen + physiologische Kochsalzlösung (ohne Serum) häufig spontan ändere, manchmal in positivem, manchmal in negativem Sinne, zuweilen gar nicht. Dabei gelangten stets dasselbe Zellmaterial und dieselbe Kochsalzlösung zur Verwendung. Auch ich konnte mit dem denaturierten Eiweiß solche Resultate erhalten, selbst nach gründlicher Reinigung der Röhrchen. Wenn ich aber das gewöhnliche Kochsalz durch Analysenkochsalz ersetzte, hörten diese Sonderbarkeiten auf. Herr Dr. *Koritschoner* hatte die Liebenswürdigkeit, mir auf meine Anfrage mitzuteilen, daß er bei seiner Arbeit die Röhrchen nur durch Spülung mit Leitungswasser zu reinigen pflegte und Speisesalz in Anwendung brachte.

Zusammenfassung.

1. Denaturiertes embryonales Organeiweiß wird a) weder vom Serum Carcinomatöser, b) noch vom Serum Nichtcarcinomatöser abgebaut.

2. Eine Ausnahme hiervon zeigt jedoch das fötale Lebergewebe insofern, als es regelmäßig vom Serum Kachektischer abgebaut wird, gleichgültig, ob das Serum von einem Carcinomatösen oder Nichtcarcinomatösen stammt, so wie nach *de Crinis* und *Mahnert* das Lebereiweiß Erwachsener sich verhält.

Literatur.

de Crinis und *Mahnert*, *Pregl* und *de Crinis*, Zeitschr. f. Fermentforsch. **1** ff. — *G. Kaminer*, Wien. klin. Wochenschr. 1916, Nr. 13. — *Koritschoner* und *Morgenstern*, diese Zeitschr. **104**, 1920. — *Koritschoner*, ebendaselbst **129**, 1922.

Über feinporige Filter und neue Ultrafilter.

Von

R. Zsigmondy.

(Aus dem Institut für anorganische Chemie der Universität Göttingen.)

(Eingegangen am 20. Februar 1926.)

Von *Malfitano* und *Duclaux* wurden Kollodiumhäutchen als Filter bei der Untersuchung kolloidaler Lösungen angewandt. Die Festigkeit derartiger Filme war jedoch ziemlich gering, ebensowenig waren sie hinsichtlich ihrer Porengrößen definiert. Einen Fortschritt stellte demgegenüber ein Verfahren von *Bechhold* dar. Dieser imprägnierte Papierfilter mit Kollodium, das in Eisessig gelöst war. Die so behandelten Filter können, da sie auf einer Unterlage zur Verwendung kommen, stärker beansprucht werden und sind auch durch verschiedenartige Behandlung bei der Herstellung mit verschiedener Porenweite zu erhalten.

Beide Arten von Filtern ließen jedoch bei den ursprünglich vorhandenen Einrichtungen nur geringe Filtrationsgeschwindigkeit zu. Diesem Nachteil suchte ich zunächst durch die Konstruktion eines Filtrationsapparats (1) mit großer Filtrierfläche zu begegnen.

Die immer noch langsame Filtration veranlaßte mich in Gemeinschaft mit *W. Bachmann* (2) sehr schnell filtrierende Filter (die Membranfilter) herzustellen (3), deren Porengröße zwischen denen der Porzellanfilter und der Kollodiumhäutchen liegt. Je nach den Bedingungen bei der Darstellung können sie mit verschieden weiten Poren hergestellt werden. Da es möglich ist, schnell filtrierende Membranen sehr verschiedener Porenweiten mit glatter Oberfläche zu erhalten, sind sie auch für analytische und präparative Zwecke sehr geeignet.

Je nach der gewünschten Verwendung werden Filter mit feineren oder gröberen Poren angewandt (3). Die durchlässigsten Membranfilter sind imstande, frisch gefälltes Bariumsulfat zurückzuhalten; desgleichen kann man gallertige, flockige Niederschläge (z. B. Hydrogele von Aluminium, Eisen, Chrom) schnell abfiltrieren und waschen und die Rückstände mühelos quantitativ entfernen. Selbst schleimige (andere Filter verstopfende) Niederschläge, wie Zinksulfid, können

leicht abfitriert werden (4a). Dafür verwendet man zweckmäßig die etwas dichteren Membranfilter. Von diesen Möglichkeiten machen eine Reihe neuartiger analytischer Verfahren Gebrauch, die besonders von *G. Jander* (4c bis g) und seinen Schülern (4o bis q) ausgearbeitet wurden. Diese führten vielfach zu sehr einfachen, schnell auszuführenden Bestimmungsmethoden bei Körpern, bei deren Analyse vorher erst langwierige Verfahren nötig waren.

Membranfilter sind auch bakteriendicht herzustellen, was besonders für biologische, klinische und toxikologische Zwecke vorteilhaft ist. Zu derartigen Untersuchungen wurden Membranfilter in der Tat vielfach mit Erfolg angewandt (5a bis i; Referate s. 4b und 4h bis m und 12b bis c).

Später gelang es mir, Ultrafilter mit sehr feinen Porèn für besondere Zwecke herzustellen. Derartige Filter werden als *Ultrafeinfilter* bezeichnet und sind vielfach im Institut für anorganische Chemie verwendet worden. Die Herstellung erfolgt im wesentlichen nach dem Verfahren von *Zsigmondy* und *Bachmann*, allerdings von anderen Rohmaterialien ausgehend. Variationen des Darstellungsvorganges bedingen auch hier die Gewinnung von Filtern verschiedener Eigenschaften und Porenweiten. Wie bei allen Filtern, sind auch bei den Ultrafeinfiltern nicht alle Poren gleich weit, sondern liegen teilweise oberhalb und unterhalb eines gewissen Mittelwertes; die mittleren Porenweiten derartiger Filter hängen, wie gesagt, von Variationen des Herstellungsverfahrens ab, die im allgemeinen nach Wunsch reguliert werden können.

Zur Prüfung der Porenweiten stehen uns, ebenso wie bei den Membranfiltern, verschiedene Mittel zur Verfügung (7). Die Durchlässigkeiten der Ultrafeinfilter sind am besten charakterisiert durch ihr Verhalten gegen Farbstoffe. Die Ultrafeinfilter mit den relativ gröbsten Poren lassen aus wässerigen Lösungen von Benzopurpurin 4 B den Farbstoff hindurchtreten und färben sich dabei an. Dichtere Ultrafeinfilter halten aus diesen Lösungen den Farbstoff vollkommen zurück, wobei sie sich entweder überhaupt nicht oder nur stellenweise anfärben. Die feinstporigen Ultrafeinfilter halten nicht nur Benzopurpurin 4 B vollkommen zurück, sondern sind sogar imstande, im Wasser gelöstes Kongorot derart abzufiltrieren, daß der Farbstoff auf dem Filter als Paste zurückbleibt. Das Filtrat und das Filter bleiben dabei farblos (6) (7).

Weniger feine Filter derselben Art färben sich aber mit den Farbstoffen an und werden intensiv gefärbt. Welche Schlüsse man daraus für die Theorie der Semipermeabilität und der Färberei ziehen kann, ist in der fünften Auflage meines Lehrbuchs der Kolloidchemie 1925, Kap. 25, gezeigt.

Die Dichtigkeit derartiger Filter macht sie auch geeignet zu Membranen für Osmometer, wenn sehr feinteilige kolloide Lösungen zu untersuchen sind, z. B. wurden Ultrafeinfilter in Verbindung mit dem von *Donnan* und *Harris* angegebenen Osmometer mehrfach mit Vorteil benutzt (6).

Es sei hier besonders hervorgehoben, daß sogar der die elektrische Leitfähigkeit bedingende Farbstoff so weit zurückgehalten wird, daß das Filtrat nicht viel besser leitet als das zur Lösung benutzte Wasser selbst, vorausgesetzt, daß der Farbstoff nicht Verunreinigungen enthält. Solche gefärbten Ionen, die das Filter nicht durchdringen, sind in der Regel Mizellionen, also nicht einfache Elektrolytionen gewöhnlicher Art, sondern häufig aus einer Anzahl von Molekülresten zusammengesetzt und mehrwertig. Die Anwendbarkeit der Filter zur Untersuchung des Lösungszustands der Farbstoffe in wässerigen Lösungen ist in einer besonderen Abhandlung besprochen (6).

Ultrafeinfilter, die sich Lösungen von Kongorot gegenüber als dicht erweisen, sind in der Regel auch dicht gegen Eiweiß. Z. B. kann mit derartigen Filtern das Eiweiß aus dem Blutserum derart weitgehend abfiltriert werden, daß sehr empfindliche Eiweißproben negativ ausfallen. Da die Eiweißzerteilungen dabei keinerlei chemischen Eingriffen ausgesetzt sind, stellt diese Möglichkeit einen einfachen Weg dar, unter weitgehender Schonung des Untersuchungsmaterials, Körperflüssigkeiten das Eiweiß zu entziehen (5i und 10).

Aus Lösungen hoher molekularer Stoffe (z. B. Na-Heptylat und Na-Nonylat), die zur Kolloidbildung neigen, läßt sich mit Hilfe der Ultrafeinfilter der kolloid gelöste Anteil von dem kristalloid gelösten teilweise trennen. Eine derartige Anwendung fanden die Filter unter anderem bei einer Untersuchung von *Leeten* (8c), der zeigte, daß bei der Ultrafiltration einer wässerigen Lösung von ölsaurem Natrium der größte Teil des Salzes auf dem Filter blieb, also kolloid gelöst war. Die Natriumsalze der mittleren Fettsäuren lassen sich durch Filtration konzentrieren (8a u. 8b). Weitere Anwendungen s. 8d.

Mit Hilfe derartiger Filter gelang *Wintgen* und *Löwenthal* (9) bei der Untersuchung *sehr feinteiliger* Hydrosole von Chromoxyd die für die Aufklärung der Mizelladung sehr wichtige Trennung der Mizelle von der intermizellaren Flüssigkeit. Kollodiumhäutchen erwiesen sich in diesem Falle als unzureichend.

Kristalloid gelöste Körper (z. B. Kochsalz, Harnstoff, Zucker) durchdringen selbst die dichtesten Ultrafeinfilter. Jedoch gelang es *Brukner*, in Lösungen von Rohrzucker mit Hilfe eines besonders dichten Ultrafeinfilters, durch Filtration die Konzentration der auf dem Filter verbleibenden Lösungen etwas zu erhöhen, d. h. den Rohrzucker durch Filtration in einer Lösung anzureichern (11).

Die relativ geringe Filtrationsgeschwindigkeit der feinstporigen Filter selbst bei Anwendung eines Vakuums machte es wünschenswert, die Filtrationsdauer abzukürzen. Dieses führte zunächst zur Konstruktion von Filtrationsapparaten für hohe Drucke bis über 100 Atm. Weiterhin wurde durch Anwendung elektromagnetischer Rührvorrichtungen die Filtration wesentlich beschleunigt. Die Anwendung und Konstruktion derartiger Einrichtungen geht zurück auf Arbeiten meiner Schüler *B. Brukner* und *W. Overbeck* (12).

Die sehr wechselnde Filtrationsgeschwindigkeit der Fette gegenüber Wasser sagt aber über die Brauchbarkeit derselben wenig aus. Manchmal halten Filter, die Wasser schneller durchtreten lassen als andere, Kongorot besser zurück als diese (langsameren). Öfter geht aber die Dichtigkeit gegen Wasser der gegen Ultramikronen parallel.

Sind die Filter noch gallertig, stark porös, so genügt oft schon Filtration von Wasser unter Druck, um sie etwas zu dichten und langsamer filtrierend zu machen (10). Sehr dichte Filter ändern nur wenig ihre Filtrationsgeschwindigkeit gegen Wasser durch erhöhten Druck.

Weit wichtiger ist die Verlangsamung durch Bildung zäher Massen auf dem Filter, die die lyophilen Kolloide häufig bei der Filtration hinterlassen. Serum kann z. B. durch Druckfiltration zu einer mehrere Millimeter dicken, zähen, elastischen Platte eingedickt werden (Versuch des Verfassers). Ähnliches fanden *Brukner* und *Uhlenbruck* (10), die den Filterrückstand ohne Verlust von dem Filter abziehen konnten. Hier wirkt die Druckfiltration unter Anwendung von Rührvorrichtungen sehr beschleunigend (10).

Während sich wässerige Lösungen (falls sie nicht stark sauer oder alkalisch sind) durch Membran- und Ultrafeinfilter einwandfrei filtrieren lassen, vertragen diese häufig nicht die Benutzung von organischen Lösungsmitteln. Es gelang indes dem Verfasser zusammen mit Dr. *E. Kratz*, Filter herzustellen, durch die man Lösungen in organischen Lösungsmitteln, z. B. in Alkohol, Äther, Aceton und Essigsäure filtrieren kann, ohne daß die Membranen Schaden leiden. Diese sogenannten „Zellafilter" sind auch gegen Alkalien und starke Säuren erheblich widerstandsfähiger als die Membran- und Ultrafeinfilter. Da auch die Zellafilter in verschiedenen Porenweiten hergestellt werden können, sind sie sehr geeignet zur Untersuchung kolloider Lösungen in organischen Lösungsmitteln. So hielt z. B. ein sehr dichtes Filter dieser Art aus einer Lösung von Nitrocellulose in Aceton den gelösten Anteil weitgehend zurück, so daß das Filtrat nahezu frei davon war. Es ist dies ein Beweis für die kolloide Natur derartiger Systeme.

Auch für Osmometer lassen sich Membranen und Säckchen herstellen, die durch organische Lösungsmittel nicht angegriffen werden. Damit ist die Dialyse und Bestimmung des osmotischen Druckes

kolloider Lösungen in organischen Solvenzien bequem zugänglich gemacht worden, was besonders für die Untersuchung von Kautschuklösungen von Bedeutung sein dürfte (14). Früher schon haben *Duclaux* und *Wollmann* (13) den osmotischen Druck von Nitrocellulose-lösungen bestimmt.

Literatur.

1) Zeitschr. f. angew. Chem. **26**, 447, 1913. — 2) *R. Zsigmondy* und *W. Bachmann*, Zeitschr. f. anorgan. Chem. **103**, 119 bis 128, 1918; zitiert im Chem. Centralbl. **1918**, II, 430. — 3) Die Herstellung (D. R.-P. Nr. 329117) geschah ursprünglich durch die Firma *E. de Haen* (Seelze); alle Filter werden jetzt von Dr. *E. Kratz*, Göttingen, Hospitalstraße 12, hergestellt, der auch Auskunft über Filter und Apparate gibt. — 4a) *R. Zsigmondy* und *G. Jander*, Zeitschr. f. analyt. Chem. **58**, 241 bis 280, 1919; zitiert im Chem. Centralbl. **1919**, IV, 889. — 4b) *W. Bachmann*, Vortrag auf d. Tagung d. Ver. D. Chemiker zu Würzburg (1919); Chem.-Ztg. **110**, 595, 1919; Zeitschr. f. angew. Chem. **32**, 616, 1919. — 4c) *G. Jander* und *H. C. Stuhlmann*, Zeitschr. f. analyt. Chem. **60**, 289 bis 321, 1921; zitiert im Chem. Centralbl. **1921**, IV, 1255 bis 1256. Dissertation von *H. C. Stuhlmann*, Göttingen 1921. — 4d) *G. Jander*, Zeitschr. f. angew. Chem. **35**, 269, 1922; zitiert im Chem. Centralbl. **1922**, IV, 297. — 4e) *Derselbe*, Habilitationsschrift, Göttingen 1921. Zeitschr. f. analyt. Chem. **61**, 145 bis 171, 1922; zitiert im Chem. Centralbl. **1922**, IV, 1. — 4f) *Derselbe*, Zeitschr. f. angew. Chem. **35**, Nr. 103 vom 26. Dezember 1922, S. 721. — 4g) *H. C. Stuhlmann*, Jahrb. d. philosophischen Fakultät in Göttingen; Nr. 17, S. 70 bis 72. — 4h) *W. Bachmann*, Kolloidchem. Untersuchungsmethoden *Lunge-Berl*, „Chem.-techn. Untersuchungsmethoden" **3**, 1292 (Berlin bei Springer 1923); vgl. auch **1**, 38, 1921. — 4i) *Houben-Weyl*, Die Methoden d. organ. Chem. **1**, 451 bis 455, 1921. — 4k) *K. Schorlemmer*, Kollegium Nr. 586, 1. Februar 1919, S. 46 bis 51; zitiert im Chem. Centralbl. **1919**, IV, 1; Mitt. aus d. Lab. d. Firma *Jucker & Co.* Chem. Fabrik, Haltingen in Baden. — 4l) *E. Jänicke*, 2. Aufl., Sammlung *Ferd. Fischer*, Chem. Technol. (Spamer). — 4m) Dr. *Harry Schmidt*, Altona a. d. Elbe, Techn. Rundschau (Berliner Tagebl.) **26**, 101 bis 102 (Nr. 15 vom 7. Juli 1920). — 4o) *G. Jander*, Die chemische Analyse unter Verwendung von Membranfiltern. Handb. d. Arbeitsmethod. in d. anorgan. Chem. von *Stähler*, **2**, 2. Hälfte, S. 923, 1925. — 4p) *G. Jander* und *Wilh. Jander*, IV. Mitt., Zeitschr. f. analyt. Chem. **63**, 273 bis 288, 1923. — 4q) *H. Maas*, Beiträge zur Kenntnis der Membranfilter und ihrer Verwendbarkeit in der analyt. Chemie. Inaug.-Diss., Göttingen 1922. — 5a) *Ficker*, Med. Klin. 1917, Nr. 45, S. 5. — 5b) *H. Citron*, Deutsch. med. Wochenschr. 1919, Nr. 12, S. 322 bis 323; zitiert im Chem. Centralbl. **1918**, II, 654. — 5c) *E. Eichhoff*, Centralbl. f. Bakt., Parasitenkunde und Infektionskrankh., I. Abt., **86**, Heft 7/3, S. 599 bis 606; zitiert im Chem. Centralbl. **1921**, IV, 850. — 5d) *P. H. Prausnitz* (Jena), Kolloid-Zeitschr. **29**, 293 bis 309, 1921; zitiert im Chem. Centralbl. **1922**, I, 843. — 5e) *H. Meyeringh*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **97**, 116 bis 136, 1922; zitiert in der Klin. Wochenschr. — 5f) *E. Mellin*, Ber. d. Deutsch. bot. Ges. **40**, 21, 1922. — 5g) *G. Wiegner*, Mitt. f. Lebensmittelunters. u. Hyg. **12**, 263 bis 288, 1921. Ein kurzes Referat über den Artikel befindet sich im Chem. Centralbl. **1922**, II, 297. — 5h) *E. W. Schmidt*, Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrankh.,

II. Abt., **58**, 464, 1923. — 5i) *Handovsky* und *Uhlenbruck*, Klin. Wochenschr., 4. Jahrg., Nr. 29. — 6a) *R. Zsigmondy* (mit Daten von Frl. *Beger* und Dr. *Joël*), Zeitschr. f. phys. Chem. **111**, H. 3/4, S. 222. — 6b) *E. Beger*, Inaug.-Diss. Göttingen 1923. — 7) *R. Zsigmondy*, Kolloidchem., 5. Aufl., 1925, Kap. 11, 24, 25. — 8a) *Müller von Blumencron*, Inaug.-Diss. Göttingen 1921. Zeitschr. d. Deutsch. Öl- u. Fettind. 1922, Nr. 10, S. 171. — 8b) *W. Prosch*, Inaug.-Diss. Göttingen 1922. Zeitschr. d. Deutsch. Öl- u. Fettind. 1922, Nr. 29, S. 450. — 8c) *W. Leeten*, Inaug.-Diss. Göttingen 1922. Zeitschr. d. Deutsch. Öl- u. Fettind. 1923, Nr. 4, S. 83. — 8d) *E. Kratz*, Inaug.-Diss. Göttingen 1923. Zeitschr. d. Deutsch. Öl- u. Fettind. 1924, Nr. 5, S. 50. — 9) *Wintgen* und *Löwenthal*, Kolloides Chromoxyd, Zeitschr. f. physik. Chem. **109**, 380. — 10) *B. Brukner* und *P. Uhlenbruck*, Zeitschr. f. Biol. **83**, 586 bis 592, 1925. — 11) *Brukner*, Inaug.-Diss. Göttingen 1925; noch ungedruckt. — 12a) *Brukner* und *Overbeck*, *Zsigmondy*-Festschrift, Ergänzungsband d. Kolloid-Zeitschr. **36**, 192, 1925. — 12b) *Thiessen*, diese Zeitschr. **140**, Heft 4/6, S. 457, 1923. — 12c) *Overbeck*, Chem. Apparatur 1926. Alle Apparate sind bei der V. G. W. (Vereinigte Göttinger Werke) Göttingen vorrätig. — 13) *Duclaux* u. *Wollmann*, C. rend. de l'Acad. des sciences **152**, 1580—1583, 1911. — 14) Unveröffentlichte Untersuchungen meiner Schüler Dr. *Kratz*, Dr. *Carius* und *Kuhmichel* und *H. Behre* (von den Hannov. Gummiwerken „Excelsior"; vorläufige unveröffentlichte Mitteilung.)

Über das Verhalten des Harnquotienten C:N bei der Adrenalinglykosurie.

Von

Hideo Wada.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 20. Februar 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Aus *Grafes* (1) kritischer Zusammenstellung der Literatur geht hervor, daß sowohl im Tierversuch (Kaninchen und Hund), wie auch im Versuch am gesunden und kranken Menschen Adrenalininjektionen, die gewöhnlich subkutan vorgenommen wurden, eine Steigerung des Gesamtumsatzes, also eine Vermehrung des O_2-Verbrauchs herbeiführen. Das gilt sowohl für den Versuch am nüchternen Tiere, wie für den Versuch am Tiere nach vorangegangener Zuckerfütterung. *Arnoldi* und *Leschke* (2) zeigten dazu beim Menschen, daß oft eine lange Nachwirkung der Adrenalinwirkung besteht, und daß je nach dem Ernährungszustand die Wirkung verschieden ausfällt. Der respiratorische Quotient ist von den verschiedenen Autoren bald mehr, bald weniger erhöht oder unbeeinflußt gefunden worden, meist aber war wohl eine Erhöhung vorhanden. Gerade bei chronischer Adrenalinvergiftung sah *Juschtschenko* (3), daß die Zunahme beim respiratorischen Gaswechsel vor allem die CO_2-Produktion, weniger den O_2-Verbrauch betraf, so daß der respiratorische Quotient erheblich anstieg. Allgemein gilt aber, daß bei der Adrenalininjektion die besprochene Gaswechselwirkung, nämlich die Erhöhung der CO_2-Produktion, die viel geringere Steigerung des O_2-Verbrauchs und vor allem die Steigerung des respiratorischen Quotienten $CO_2 : O$ sofort nach der Injektion einsetzt, rasch abklingt und dann sogar erniedrigten Werten mitunter Platz machen kann. Bei allem sind die Steigerungen der zirkulatorischen, respiratorischen (Steigerungen des Atemvolumens) und nervösen Faktoren zu berücksichtigen.

Die erhöhte Zuckermobilisation bzw. der erhöhte Blutzucker ist wohl ohne wesentliche Bedeutung für die Oxydationssteigerung. Dagegen ist eine vermehrte Kohlehydratverbrennung an der Erhöhung des respiratorischen Quotienten schuld, wenn man auch mit *Bornstein* (4) an eine vermehrte Abdunstung präformierter CO_2 in den Lungen denken muß.

Die N-Ausscheidung wurde beim Hunde, Kaninchen, und zwar gerade beim gesättigten Kaninchen vermehrt gefunden, aber es wurde auch von manchen Autoren eine Steigerung des Eiweißumsatzes vermißt. Je besser die Tiere aber im allgemeinen ernährt waren, so folgert *Grafe* (1) aus den vorliegenden Beobachtungen, um so deutlicher war die Steigerung des respiratorischen Quotienten, und um so geringer die Änderung am Eiweißstoffwechsel, je schlechter sie ernährt waren, und um so mehr sie hungerten, um so geringer war die Steigerung des respiratorischen Quotienten, und um so deutlicher die Steigerung des Eiweißumsatzes.

Im Hinblick auf meine Versuche, die sämtlich an gut genährten Kaninchen ausgeführt wurden, kann man also aus dem in der Literatur vorliegenden Beobachtungsmaterial folgern, daß als direkte und akute Wirkung bei der Adrenalininjektion eine Steigerung der Verbrennung (O_2-Verbrauch) eintritt, wobei wohl vor allem das Kohlehydrat im Hinblick auf die Erhöhung des respiratorischen Quotienten das Brennmaterial liefert.

Bei dieser Steigerung der Kohlehydratoxydation unter dem Einfluß des Adrenalins war die Frage berechtigt, ob bei dem größeren Umsatz von Kohlehydrat eine entsprechend vollständige Oxydation der gesamten umgesetzten Masse vorhanden wäre, oder ob dabei dysoxydative Störungen am Kohlehydrat in dem Sinne mit unterliefen, daß ein Teil des Kohlehydrats etwa einem partiellen Abbau anheimfiele, der dann als dysoxydabler Kohlenstoff im Harn neben dem Zucker aufträte. Schien doch die Adrenalinglykosurie darauf hinzudeuten, daß der Körper trotz gleichzeitiger Steigerung der Zuckeroxydation der stürmisch mobilisierten und ins Blut abströmenden Zuckermasse nicht Herr wird, und daß deshalb der Schwellenwert für die Zuckerzurückhaltung in der Niere überschritten wird, und der Zucker im Harn erscheint. So war es auch denkbar, daß Kohlenstoffverbindungen, die partiell abgebauten Zucker darstellten, neben der Glykose im Harn auftreten könnten, und zwar in einer pathologisch gesteigerten Menge, wie es von *Bickel* und *Kauffmann-Cosla* (5) und später von mir selbst (7) beim menschlichen Diabetes nachgewiesen ist, und wie *Kanamori* (6) es auch gelegentlich beim Phlorrhizindiabetes des Hundes gefunden hat. Beim Phlorrhizindiabetes liegen die Oxydationsverhältnisse insofern anders als bei der Adrenalinglykosurie, als dort das Zuckerverbrennungsvermögen in höchstem Grade eingeschränkt ist, während bei der Adrenalinvergiftung der Zucker in gesteigertem Umfange ver-

brannt wird. Ob nun bei der Adrenalinglykosurie dysoxydative Störungen am Zucker trotzdem mit unterlaufen oder nicht, konnte nur durch den Versuch entschieden werden.

Ich habe diese Frage am Kaninchen geprüft.

Die Tiere wurden bei gleichem Futter (Futterrüben) gehalten, und es wurde in einer Vorperiode der N- und C-Gehalt in der 24stündigen Harnmenge täglich ermittelt, und auf diese Weise wurden Durchschnittswerte hierfür wie auch für den Quotienten C : N in der Norm erhalten. Alsdann bekamen die Tiere mehrere Tage hindurch subkutane Adrenalininjektionen. Nunmehr wurden in der 24stündigen Harnmenge der gesamte C und N und außerdem der Zucker titrimetrisch bestimmt. Der Zuckerkohlenstoff wurde berechnet und von dem Gesamt-C des Harns abgezogen, und dann wurde mit diesem Rest-C und dem Gesamt-N der Quotient C : N (Restquotient) ermittelt. In der Nachperiode, die mit dem Aufhören der Adrenalinglykosurie begann und in der keine Adrenalininjektionen gemacht wurden, wurde wie in der Vorperiode der Quotient C : N aus dem totalen C des Harns festgestellt.

Auf das Verhalten dieses *Rest*quotienten kommt es an. Dieser ist beim menschlichen Diabetes vielfach pathologisch erhöht; beim Phlorrhizindiabetes ist er nur ausnahmsweise erhöht. *Es kommt auf die Höhe dieses Restquotienten an im Vergleich zu der Höhe des Gesamtquotienten in der Vorperiode, und es kommt auf das Verhalten des Gesamtquotienten in der Nachperiode im Vergleich zu demjenigen des Gesamtquotienten in der Vorperiode an.*

Da nun der Kaninchenharn deutlich alkalische Reaktion hat und eine bakterielle Zerstörung von Zucker beim Sammeln des Harns während 24 Stunden möglich ist, wie ich (8) in einer anderen Mitteilung nachwies, wurde bei meinen Versuchen der Harn in einem Gefäß aufgefangen, das in einer Kältemischung stand, so daß der Harn nach seinem Eintritt in das Gefäß rasch zu Eisklumpen gefror. Dieser Harneisklumpen wurde dann am Ende der 24stündigen Periode aufgetaut und zur Analyse verwandt.

Aus meinen Versuchen teile ich zwei mit, die in jeder Beziehung tadellos durchgeführt sind. Ich stelle in der folgenden Tabelle I die

Tabelle I.

	Kaninchen 3			Kaninchen 4		
	C pro Tag g	N pro Tag g	C : N pro Tag g	C pro Tag g	N pro Tag g	C : N pro Tag g
Vorperiode . .	1,0882	0,7662	1,429	1,1156	0,7872	1,402
Hauptperiode .	1,1734	0,9078	1,292	0,9389	0,7187	1,306
Nachperiode .	1,1105	0,8372	1,322	1,0709	0,8008	1,373

Die C- bzw. C : N-Werte in der Hauptperiode bedeuten immer Rest-C bzw. Rest-C : N-Werte.

Tabelle II. Kaninchen 3.

Datum	Körpergewicht	Harn	Gesamt-C	Gesamt-N	Gesamt-C / Gesamt-N		Ges. Zucker Titr.	Ges. Zucker-C Titr.	Rest-C Titr.	Rest-C (Titr.) / Ges.-N		Bemerkungen
1. XII.	1900	360	1,3824	0,8568	1,6101	1,429	—	—	—	—		
2. XII.	—	395	1,1569	0,7737	1,495		—	—	—	—		
3. XII.	1920	435	1,0736	0,9744	1,101		—	—	—	—		
4. XII.	1850	320	0,8368	0,6272	1,334		—	—	—	—		
5. XII.	1750	410	1,1024	0,6888	1,600		—	—	—	—		
6. XII.	1850	324	0,9506	0,7258	1,309		—	—	—	—		
7. XII.	1800	256	1,1148	0,7168	1,555		—	—	—	—		
8. XII.	1750	233	1,2833	0,5872	2,185	1,8428	0,9194	0,3677	0,9163	1,561	1,292	Adrenalin 0,5 ccm 2 mal täglich injiziert
9. XII.	1820	310	1,4991	0,7812	1,919		0,8463	0,3385	1,1606	1,485		
10. XII.	1850	360	1,9702	0,9072	2,160		1,872	0,7488	1,2214	1,345		
11. XII.	1850	330	1,6414	1,0164	1,614		1,353	0,5412	1,1004	1,082		
12. XII.	1820	405	1,6675	1,2474	1,336		0,4982	0,19928	1,4683	1,177		
13. XII.	1820	285	1,0009	0,7980	1,254	1,322	—	—	—	—		
14. XII.	1870	230	1,0136	0,7728	1,312		—	—	—	—		
15. XII.	1850	420	1,3172	0,9408	1,400		—	—	—	—		

Tabelle III. Kaninchen 4.

Datum	Körpergewicht	Harn	Gesamt-C	Gesamt-N	Gesamt-C / Gesamt-N		Ges. Zucker Titr.	Ges. Zucker-C Titr.	Rest-C Titr.	Rest-C (Titr.) / Ges.-N		Bemerkungen
16. XII.	2220	360	1,1275	0,7056	1,596	1,4022	—	—	—	—		
17. XII.	2200	420	1,4683	0,9408	1,5607		—	—	—	—		
18. XII.	2200	365	0,7511	0,7154	1,0500		—	—	—	—		
19. XII.	2150	460	3,5528	0,9016	3,9406	3,939	5,68739	2,27496	1,2779	1,4174	1,306	Adrenalin 0,5 ccm 2 mal täglich injiziert
20. XII.	2120	330	1,3860	0,7412	1,8699		1,17239	0,46895	0,9171	1,2373		
21. XII.	2100	320	3,0667	0,4480	6,8453		6,65205	2,66082	0,4158	0,9283		
22. XII.	2120	400	2,4305	0,7840	3,1002		3,2134	1,28536	1,1451	1,4606		
23. XII.	2150	400	0,9588	0,8960	1,0700	1,3734	—	—	—	—		
24. XII.	2100	420	1,1831	0,7056	1,6768		—	—	—	—		

Versuchsergebnisse zusammen. Aus dieser Tabelle geht hervor, daß unter Nichtberücksichtigung des im Traubenzucker enthaltenen C in den glykosurischen Perioden bei dem Versuch 3 unter der Adrenalinwirkung im Tagesdurchschnitt die C- und N-Ausscheidung im Harn in der Hauptperiode etwas zunahmen, während sie im Versuch 4 etwas abnahmen; das stimmt mit den Resultaten der Versuche anderer Beobachter überein, soweit die N-Ausscheidung in Frage kommt, wie

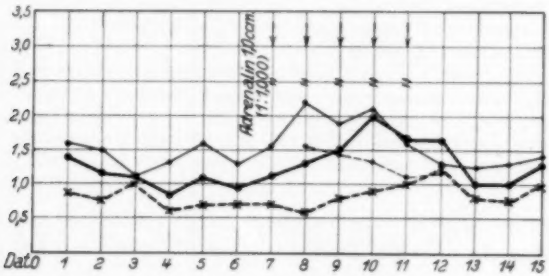


Abb. 1. Kaninchen 3.
——— Gesamt-C. – – – Gesamt-N. ——— C : N. — — — $\frac{\text{Rest-C (Titr.)}}{\text{Gesamt-N}}$.

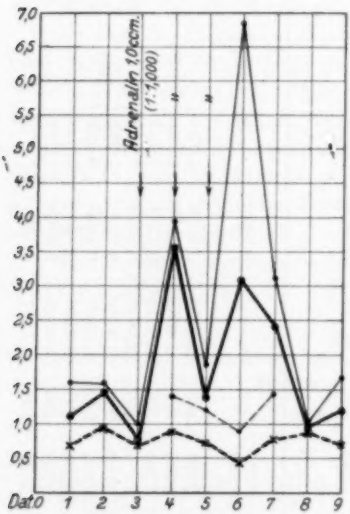


Abb. 2. Kaninchen 4.
——— Gesamt-C. – – – Gesamt-N.
——— C : N. — — — $\frac{\text{Rest-C (Titr.)}}{\text{Gesamt-N}}$.

ich in der Einleitung auseinandergesetzt habe. Die C-Ausscheidung war bisher nicht untersucht worden. In beiden Versuchen aber hatte sich unter der Adrenalinwirkung der nicht im Zucker enthaltene dysoxydable Kohlenstoff des Harns im Vergleich zum Stickstoff etwas vermindert, und infolgedessen war in beiden Fällen der Quotient C : N oder, besser gesagt, der Restquotient unter der Adrenalineinwirkung herabgegangen. Die Senkung des Quotienten beträgt etwa 0,1. Das ist nicht viel, aber es beweist doch jedenfalls, daß durch das Adrenalin dysoxydative Störungen nicht erzeugt werden, sondern daß eher die Verbrennung des Kohlenstoffs vollständiger wird.

Ergebnis.

Aus meinen Versuchen geht hervor, daß es bei der Adrenalinglucosurie im Gegensatz zum menschlichen Diabetes und auch zu manchen Fällen von Phlorrhizinglykosurie nicht zu einer gesteigerten Ausscheidung von dysoxydablem Kohlenstoff im Vergleich zum Stickstoff durch den Harn neben dem Traubenzucker kommt.

Experimenteller Teil.

Der Stickstoff wurde nach *Kjeldahl*, der Kohlenstoff nach der in der Arbeit von *Gomez* (9) beschriebenen Methode, der Zucker nach *Bertrand* bestimmt.

Literatur.

1) *Grafe*, Die pathologische Physiologie des Gesamt-Kraft- und -Stoffwechsels bei der Ernährung des Menschen. Verlag Bergmann 1923. — 2) *Arnoldy* und *Leschke*, Zeitschr. f. klin. Med. **92**, 1921. — 3) *Juschtschenko*, diese Zeitschr. **15**, 1909. — 4) *Bornstein*, ebendaselbst **114**, 157, 1921. — 5) *Bickel* und *Kauffmann-Cosla*, Klin. Wochenschr. 1924, Nr. 28; Virchows Arch. **259**, 1926. — 6) *Kanamori*, diese Zeitschr. **170**, 410, 1926. — 7) *Wada*, Nach dem Manuskript zitiert. — 8) *Derselbe*, ebendaselbst. — 9) *Gomez*, diese Zeitschr. **167**, 1926.

Über Veränderungen des Restquotienten C:N im zuckerhaltigen alkalischen Harn infolge von Zersetzungsvorgängen.

Von

Hideo Wada.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 20. Februar 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Bei den Untersuchungen über das Verhalten des Harnquotienten C:N unter verschiedenen pathologischen Bedingungen, die im hiesigen Laboratorium in den letzten Monaten ausgeführt wurden, stießen wir auf folgende methodisch wichtige Frage. Es war bei den Arbeiten mit zuckerhaltigen Harnen oft erforderlich gewesen, den Harnquotienten C:N nach Abzug des nach der polarimetrischen oder titrimetrischen Methode ermittelten Zuckers und des daraus durch Rechnung gefundenen Zucker-C-Gehalts zu bestimmen. Wir bezeichnen diesen Quotienten als den Restquotienten. Diese Analysen mußten in der während 24 Stunden gesammelten Harnmenge gemacht werden. Wenn diese Analysen Wert haben sollten, dann mußte man sicher sein, daß in den 24 Stunden, während der Sammlung des Harns, der Zucker nicht zersetzt würde. Denn bei der Zersetzung des Zuckers — besonders kam hier eine Zersetzung unter der Mitwirkung von Bakterien in Frage — konnten aus dem Zucker C-haltige Substanzen gebildet werden, die nicht mehr reduzierten oder optisch aktiv waren, die aber den Restquotienten beeinflußten; es konnte auch ein Teil des Kohlenstoffs des zersetzten Zuckers in Substanz der Bakterienleiber bei der Vermehrung der Bakterien umgewandelt werden. Auch die aus zersetztem Zucker gebildete und in dem Harn absorbierte oder anderweitig gebundene Kohlensäure konnte den Restquotienten beeinflussen. Nur die aus dem

Harn entwichene Kohlensäure des zersetzten Zuckers wäre auf den Restquotienten ohne Einfluß geblieben.

Während nun der Harn des Menschen und auch derjenige des Hundes auch nach 24stündiger Sammlung gewöhnlich eine saure oder doch mindestens eine schwach saure Reaktion zeigen und hier eine bakterielle Zersetzung des Zuckers kaum in Frage kommt — *Watanabe* fand im hiesigen Laboratorium bei ad hoc angestellten Versuchen überdies die Richtigkeit dieser Annahme bestätigt —, war bei dem alkalischen Kaninchenharn die Möglichkeit gegeben, daß hier Zersetzungen des Zuckers und damit Beeinflussungen des Restquotienten vorkommen könnten. Daher habe ich diese Frage einer genauen experimentellen Prüfung unterzogen.

In meiner Arbeit über das Verhalten des Harnquotienten C : N bei der Adrenalinglykosurie habe ich gezeigt, daß der Restquotient des Harns in den glykosurischen Perioden nicht erhöht ist. Bei diesen Versuchen wurde der während 24 Stunden sich absondernde Harn in einem Gefäß aufgefangen, das in einer Kältemischung stand, so daß der jeweils abfließende Harn sofort gefror und eine bakterielle Zersetzung unmöglich wurde. Ich habe nun bei meiner vorliegenden Arbeit ebenfalls durch Adrenalinvergiftung glykosurischen Harn bei Kaninchen erzeugt und die Versuche ganz in derselben Weise angestellt wie die Versuche in meiner oben zitierten Arbeit, nur mit dem Unterschied, daß der Harn in einem Gefäß aufgefangen wurde, das nicht in einer Kältemischung stand, so daß also der Harn während 24 Stunden bei Zimmertemperatur von etwa 18° C gesammelt wurde. In der 24stündigen Harnmenge wurde der Zucker titrimetrisch nach *Bertrand* bestimmt und der Zucker-C-Wert daraus theoretisch berechnet. Gleichzeitig wurde der gesamte C-Gehalt des Harns nach der in der Arbeit von *Gomez* beschriebenen Methode ermittelt und der Stickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt. Von diesem Gesamt-C-Wert wurde der Zucker-C-Wert abgezogen und der Rest-C durch den Gesamt-N dividiert, und so der Restquotient C : N bestimmt. In den aglykosurischen Perioden wurde der Quotient aus dem gesamten C- und N-Gehalt des Harns ermittelt.

Ich fand nun, daß der Restquotient im glykosurischen Harn im Vergleich zu dem Gesamtquotienten der Vorperiode und Nachperiode stärker erhöht war. Das war ebensowohl der Fall bei der Anwendung des Titrationswertes wie auch des Polarisationswertes für den Zucker.

Wenn ich aber die 24stündige Harnmenge bei Kaninchen oder auch bei demselben Kaninchen einige Wochen später in dem in der Kältemischung befindlichen Gefäß sammelte, dann war der Rest-

quotient in den Adrenalinperioden niemals erhöht, sondern, wie ich in meiner früheren Arbeit mitteilte, eher etwas erniedrigt.

	Versuch mit Eiskasten	Versuch ohne Eiskasten
Kaninchen Nr. 1.		
Quotient in Vorperiode	1,429	1 442
Restquotient in Adrenalinperiode . . .	1,292	1,940
Quotient in Nachperiode	1,322	1,316
Kaninchen Nr. 2.		
Quotient in Vorperiode	1,402	1,546
Restquotient in Adrenalinperiode . . .	1,306	2,490
Quotient in Nachperiode	1,373	1,620

Aus diesen Versuchen sieht man, eine wie starke Zuckerzersetzung und, damit Hand in Hand gehend, eine wie starke Erhöhung des Restquotienten auftritt, wenn man den zuckerhaltigen alkalischen Kaninchenharn nicht unter Eis sammelt. Ferner zeigt die gute Übereinstimmung der Werte in den Vor- und Nachperioden der beiden Versuche bei jedem Kaninchen, daß im nicht zuckerhaltigen Kaninchenharn durch das Sammeln des Harns bei Zimmertemperatur keine Veränderung in dem Quotienten zustande kommt. Ich bemerke noch, daß bei den Restquotientbestimmungen in der vorstehenden Tabelle die titrimetrische Methode der Zuckeranalyse benutzt wurde.

Ferner habe ich noch folgenden Versuch angestellt. Ich habe in einem Kaninchenharn, der keinen Zucker enthielt, den Quotienten ermittelt, darauf habe ich diesem Harn eine bestimmte Menge Traubenzucker zugesetzt und den Harn 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Darauf habe ich den Zucker in dem Harn titrimetrisch bestimmt, abermals den Gesamt-C-Gehalt des Harns analysiert und den theoretisch berechneten Zucker-C von dem Gesamt-C abgezogen und diesen Rest-C zur Quotientbestimmung benutzt. Auch in diesem Falle war der Restquotient in dem zuckerhaltigen Harn nach dem Stehen des Harns bei Zimmertemperatur erhöht. Das Versuchsprotokoll findet sich in folgender Tabelle.

Kaninchen. Quotient des Harns vor dem Zuckerzusatz: 1,35.

Harn	C	N	C : N	Zucker	Gesamt-Zucker	Gesamt-Zucker-C	Rest-C	$\frac{\text{Rest-C}}{\text{Ges.-N}}$	Bemerkungen
320	1,3696	0,6384	2,14	0,15	0,48	0,192	1,1776	1,84	Zum Harn 1,0 g Traubenzucker zugesetzt und nach 24 Stunden untersucht. Stehen bei Zimmertemperatur

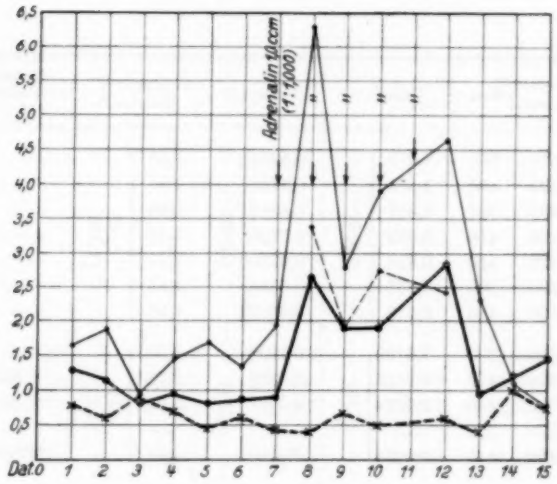


Abb. 1. Kaninchen 1.

Gesamt-C. — — — Gesamt-N.
C : N. — · — · — Rest-C (Titr.) / Gesamt-N

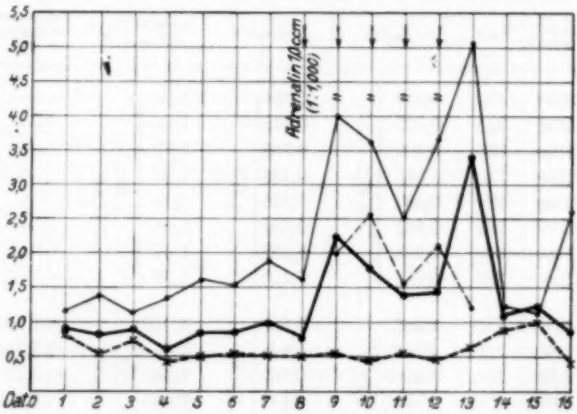


Abb. 2. Kaninchen 2.

Gesamt-C. — — — Gesamt-N.
C : N. — · — · — Rest-C (Titr.) / Gesamt-N

Tabelle I.

Kaninchen Nr.

Datum	Körpergewicht	Harn	Gesamt-C		Gesamt-N		$\frac{\text{Gesamt-C}}{\text{Gesamt-N}}$		Gesamt-Zucker Pol.	Gesamt-Zucker Titr.
8. XI.	2220	360	1,315		0,8064		1,63		—	—
9. XI.	2200	440	1,164		0,6160		1,89		—	—
10. XI.	2200	380	0,817		0,8512		0,96		—	—
11. XI.	2200	410	0,952	*0,9767*	0,5740	*0,6316*	1,48	1,57 *(1,546)*	—	—
12. XI.	2250	340	0,816		0,4760		1,71		—	—
13. XI.	2220	380	0,863		0,6384		1,35		—	—
14. XI.	2220	410	0,910		0,4592		1,97		—	—
15. XI.	2200	300	2,6499		0,4200		6,30		—	3,15
16. XI.	2170	410	1,9188		0,6888		2,78		1,3653	1,558 25
17. XI.	2100	440	1,9294	*2,3397*	0,4928	*0,5541*	3,92	4,41 *(4,22)*	1,100	1,431 76
18. XI.	2170	330	—		—		—		—	—
19. XI.	2150	440	2,8608		0,6160		4,64		3,300	3,410
20. XI.	2200	300	0,9792		0,420		2,33		—	—
21. XI.	2240	420	1,2390	*1,2312*	1,117	*0,7596*	1,109	1,809 *(1,620)*	—	—
22. XI.	2200	530	1,4755		0,742		1,988		—	—

Tabelle II.

Kaninchen Nr.

Datum	Körpergewicht	Harn	Gesamt-C		Gesamt-N		$\frac{\text{Gesamt-C}}{\text{Gesamt-N}}$		Gesamt-Zucker Pol.	Gesamt-Zucker Titr.
22. X.	2050	400	0,916		0,784		1,16		—	—
23. X.	2150	325	0,772		0,546		1,41		—	—
24. X.	2180	385	0,907		0,755		1,17		—	—
25. X.	2100	310	0,585	*0,835*	0,434	*0,579*	1,34	1,465 *(1,442)*	—	—
26. X.	2050	250	0,857		0,525		1,62		—	—
27. X.	2100	289	0,862		0,566		1,56		—	—
28. X.	2130	380	0,998		0,532		1,87		—	—
29. X.	2100	350	0,783		0,490		1,59		—	—
30. X.	2050	330	2,2427		0,554		4,045		2,805	2,871
31. X.	2000	320	1,8021		0,448		3,58		1,536	1,648
1. XI.	2000	250	1,4000	*2,0597*	0,560	*0,5393*	2,50	3,667 *(3,819)*	1,25	1,35
2. XI.	1970	330	1,4600		0,462		3,16		0,858	1,2375
3. XI.	1920	400	3,394		0,672		5,05		5,64	5,60
4. XI.	2000	270	1,1165		0,907		1,236		—	—
5. XI.	2050	350	1,1872	*1,0487*	1,078	*0,7966*	1,101	1,472 *(1,316)*	—	—
6. XI.	2050	360	0,8424		0,403		2,089		—	—

Tabelle II.

Nr. 2.

Gesamt-Zucker Titr.	Gesamt-Zucker-C Pol.	Gesamt-Zucker-C Titr.	Rest-C Pol.	Rest-C Titr.	Rest-C (Pol.) / Gesamt-N	Rest-C (Titr.) / Gesamt-N		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
15	—	1,2600	—	1,3899	—	3,3930		Adrenalin 0,5 ccm zweimal täglich injiziert
558 25	0,5461	0,6233	1,3727	1,2955	1,9920	1,8808	2,49	
431 76	0,4400	0,5727	1,4894	1,3567	3,0223	2,7530		
—	—	—	—	—	—	—		
410	1,3200	1,3620	1,5408	1,4988	2,5010	2,4330		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		

Tabelle II.

Nr. 1.

Gesamt-Zucker Titr.	Gesamt-Zucker-C Pol.	Gesamt-Zucker-C Titr.	Rest-C Pol.	Rest-C Titr.	Rest-C (Pol.) / Gesamt-N	Rest-C (Titr.) / Gesamt-N		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
871	1,122	1,148	1,1207	1,1094	2,02	1,98		Adrenalin 0,5 ccm zweimal täglich injiziert
348	0,614	0,659	1,1881	1,1431	2,65	2,55	1,94	
35	0,500	0,540	0,9000	0,8600	1,60	1,54		
2375	0,343	0,495	1,1170	0,9650	2,50	2,09		
60	2,256	2,240	1,1380	1,1540	1,69	1,71		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—		

Ergebnis.

Aus meinen Versuchen ergibt sich, daß im zuckerhaltigen, alkalischen Harn beim Stehenlassen des Harns bzw. beim Sammeln des Harns bei 24 stündiger Zimmertemperatur ein Teil des reduzierenden Zuckers in nicht reduzierende Kohlenstoffverbindungen übergeführt wird. Dadurch wird der Restquotient des Harns erhöht. Diese Fehlerquelle, an die man bei derartigen Untersuchungen beim alkalischen Harn stets denken muß, kann durch sofortiges Gefrierenlassen des Harns ausgeschaltet werden. Beim sauren Harn findet auch beim Aufbewahren des Harns bei Zimmertemperatur keine Zuckerzersetzung statt, wie *Kanamori* nachgewiesen hat.

Zum Nachweis des Bilirubins.

Von

Maximilian Sternberg.

(Aus der I. medizinischen Abteilung des Krankenhauses Wieden in Wien.)

(Eingegangen am 22. Februar 1926.)

Der Zufall stellte mich vor die Notwendigkeit, einen Harn ohne die üblichen Reagenzien auf Bilirubin zu untersuchen.

Die folgende Überlegung führte zur Lösung dieser Aufgabe: Das Bilirubin ist in Wasser unlöslich, im Harn als Bilirubinalkali gelöst. Zerlegt man diese Verbindung durch Zusatz einer schwachen Säure, so muß das unlösliche Bilirubin ausfallen. Setzt man aber gleichzeitig noch ein Oxydationsmittel und Alkohol zu, so entsteht Biliverdin, das sich in dem verdünnten Alkohol mit grüner Farbe lösen muß, da es in Alkohol ziemlich leicht löslich ist. Zufällig war Phosphorsäure, Alkohol und altes, verharztes Oleum juniperi vorhanden, das letztgenannte hatte einmal als Inhalationsmittel gedient. Mit diesen Reagenzien gelang in der Tat eine deutliche und überzeugende Probe beim Erwärmen.

Eine weit schönere und empfindlichere Reaktion erhält man, wenn man das als Notbehelf verwendete oxydierte ätherische Öl durch die käufliche Lösung von Wasserstoffsuperoxyd ersetzt.

Die Reaktion wird am zweckmäßigsten folgendermaßen angestellt: Man füllt die Kuppe der Eprouvette mit Phosphorsäure in offizineller Lösung, fügt 2 cm hoch Harn hinzu und die gleiche Menge von 96proz. Alkohol, dann ungefähr so viel H_2O_2-Lösung wie Phosphorsäure. Die Mischung wird über der Flamme vorsichtig erwärmt, ohne zu kochen. Bei Gegenwart von Bilirubin tritt eine schöne grasgrüne Färbung auf, die beim Stehen und Abkühlen noch an Intensität zunimmt. Bei längerem Kochen schreitet die Oxydation weiter und es entsteht bräunliche Entfärbung.

Die Empfindlichkeit dieser Reaktion ist ungefähr gleich der Empfindlichkeit der Jodtinkturprobe, wenn sie mit Überschichtung ausgeführt wird.

Die neue Reaktion hat ein gewisses theoretisches Interesse, indem sie die Richtigkeit der gebräuchlichen Annahmen über das Verhalten der Gallenfarbstoffe direkt bestätigt. Sie kann an Stelle der *Gmelin*schen Probe und ihrer Modifikationen verwendet werden und dürfte insofern auch Vorteile haben, als sie sehr einfach auszuführen ist und das Arbeiten mit Salpetersäure vermeidet, das im klinischen Laboratorium und noch mehr für den praktischen Arzt nicht eben bequem ist.

Über die Beeinflussung des Harnquotienten C:N durch Insulin beim normalen Kaninchen.

Von

Hideo Wada.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 22. Februar 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Bei der Avitaminose, bei der der Kohlehydratstoffwechsel im Sinne einer Herabsetzung der Oxydation gestört ist, und zwar gewöhnlich, ohne daß es dabei zu einer Glykosurie kommt, kann nach den Beobachtungen von *Bickel* und *Collazo* (1) die Störung des Kohlehydratstoffwechsels durch Insulin unter anderem so weit reguliert werden, daß es wieder zu einem Glykogenansatz in der Leber kommt. Die Leber ist bei der Avitaminose fast glykogenfrei.

Ferner haben *Bickel* und *Kauffmann-Cosla* (2) bei der Avitaminose gefunden, daß durch Insulininjektion die bei dieser Krankheit vermehrte Ausscheidung von dysoxydablem Kohlenstoff zurückgeht, und zwar von Kohlenstoff, der nicht im Traubenzucker enthalten ist, und daß der bei dieser Krankheit erhöhte Quotient C : N durch Insulin gesenkt wird. Vielfach sank auch unter der Insulinwirkung bei diesen Versuchen die Stickstoffausscheidung, aber die wesentliche Wirkung durch Insulin zeigte sich doch an der Verminderung des dysoxydablen Kohlenstoffs. Ferner hat *Lili Rosenwald* (3) im hiesigen Laboratorium gefunden, daß auch die von ihr und gleichzeitig auch von *Collazo* im Institut für experimentelle Pathologie in Paris gefundene Steigerung der Milchsäureausscheidung durch den Harn bei der Avitaminose durch die Insulininjektion herabgedrückt werden kann. Allerdings tritt diese Verminderung der Milchsäureausscheidung erst am folgenden oder übernächsten Tage nach der Insulininjektion deutlich zutage.

Kauffmann-Cosla (2) hatte nun weiter gesehen, daß bei einem normalen Hunde, der mit Fleisch ernährt wurde, kein Einfluß des Insulins auf den Harnquotienten C : N nachweisbar war, wenn dem Tiere, das 6 kg wog, sechs Einheiten Insulin injiziert wurden.

Aus allen diesen Beobachtungen geht hervor, daß die Insulininjektion nicht nur den in der Form der Dextrose durch den Harn zur

Ausscheidung gelangenden dysoxydablen Kohlenstoff, sondern auch andere Quoten dieses Kohlenstoffs zu vermindern vermag, wenn unter pathologischen Verhältnissen dieser Kohlenstoff vermehrt ist. Beim normalen Organismus aber scheint die Insulinwirkung auf den dysoxydablen Harnkohlenstoff anders zu sein. Der Versuch von *Kauffmann-Cosla* an einem normalen Tiere wurde am Hunde ausgeführt, der bei Fleischfütterung einen verhältnismäßig niedrigen Quotienten von 0,54 hatte. Man konnte denken, daß bei einem derartig niedrigen Quotienten eine Insulinzulage zum Körper deshalb ohne Wirkung war, weil der Körper intermediär bereits eine optimale Oxydation zeigte. Es war möglich, daß ein Körper, der in der Norm einen höheren Quotienten aufwies, bei dem also größere Mengen von dysoxydablem Kohlenstoff ausgeschieden wurden, sich anders verhielt bei der Insulininjektion. Das Kaninchen ist nun ein Tier, das in der Norm im Gegensatz zum Hunde einen sehr hohen Quotienten besitzt. Er liegt beim Kaninchen gewöhnlich zwischen 1,5 und 2,5.

Meine Versuchsanordnung war nun derart, daß ich bei Kaninchen, die unter täglich gleicher Fütterung mit Futterrüben gehalten wurden, den Quotienten bestimmte, den Stickstoff nach *Kjeldahl*, den Kohlenstoff nach der in der Arbeit von *Gomez* (4) angegebenen Methode. Es wurde zunächst in einer 1 bis 1 ½ Wochen dauernden Vorperiode im Harn täglich der Quotient bestimmt und der Mittelwert des Quotienten in dieser Vorperiode berechnet. In einer ebenso lange währenden oder auch länger dauernden Hauptperiode, in der die Tiere täglich Insulininjektionen bekamen, wurde ebenso verfahren, desgleichen in einer Nachperiode von ungefähr derselben Dauer, in der aber das Insulin wieder fortgelassen wurde. Bei einem Kaninchen habe ich die Versuchsanordnung noch etwas modifiziert. Ich habe dem Kaninchen neben dem Rübenfutter täglich eine bestimmte Menge Traubenzucker gegeben. Durch diese Traubenzuckergabe wird die Gesamtausscheidung des dysoxydablen Kohlenstoffs nicht verändert, es trat auch keine Glykosurie auf, aber die Gesamtstickstoffausscheidung sank infolge der eiweißsparenden Wirkung der Traubenzuckergabe auf ungefähr die Hälfte, so daß sich der Quotient verdoppelte. Nachdem dies erreicht war, wurden bei dauernder Traubenzuckerzufuhr nunmehr die Insulininjektionen gemacht und der Quotient weiter untersucht.

Ich teile zunächst das Ergebnis meiner Versuche mit. In einem Versuch, bei dem einem Kaninchen von 1800 g Körpergewicht täglich zwei Einheiten Insulin, und zwar eine vormittags und eine abends subkutan injiziert wurden, stieg der Quotient während der Insulininjektion von 1,79 in der Vorperiode auf 2,13 an und erhob sich in der insulinfreien Nachperiode weiter bis auf 3,43. Bei einem anderen Versuch, bei dem etwas größere Insulinmengen, zunächst täglich

zweimal eine Einheit, später täglich zweimal zwei Einheiten injiziert wurden, sank der Quotient von 2,12 in der Vorperiode auf 1,80 in der Insulinperiode, um nachher wieder in der insulinfreien Nachperiode auf 2,36 anzusteigen.

Bei diesen Versuchen war also bei der kleineren Dose der Quotient etwas gesteigert worden, bei der größeren Dosis Insulin aber leicht gesenkt worden. *Der Effekt der Insulininjektion auf den Quotienten beim normalen Kaninchen ist also sicherlich nicht einheitlich, aber ein Einfluß ist schon vorhanden.*

Bei dem Kaninchen mit der Traubenzuckerzulage stieg unter der Wirkung von vier Einheiten Insulin pro Tag der Quotient an, sank dann unter der Wirkung von sechs Einheiten täglich etwas unter den Wert der Vorperiode, in der Traubenzucker, aber kein Insulin gegeben wurde, und er erhob sich wieder über diesen Vorperiodenwert ein wenig, als acht Einheiten Insulin täglich gegeben wurden.

In der Nachperiode sank dann der Quotient wieder, erreichte aber auch, als mit der Traubenzuckerzufuhr aufgehört wurde, nicht mehr den Wert des ersten Teiles der Vorperiode, in dem noch kein Traubenzucker gegeben wurde, sondern blieb zwischen den Werten der beiden Abschnitte der Vorperiode. Es ist immerhin auffällig, daß bei allen diesen Versuchen nach dem Aussetzen des Insulins der Quotient erhöht war, während bei der Insulininjektion ohne Rücksicht auf die Dosis der Quotient bald erhöht, bald erniedrigt war. Gerade die Beobachtungen an dem Kaninchen mit Zuckerzulage zur Nahrung zeigen, daß die Quotientänderungen, sowohl die durch die Zuckerzulage allein hervorgerufenen, wie auch die durch das Insulin bewirkten in erster Linie durch die Änderungen in der Stickstoffausscheidung herbeigeführt werden. Bei der Gabe von vier Einheiten Insulin wurde eine stärkere Stickstoffersparung erzielt, bei der Gabe von sechs und acht Einheiten Insulin aber war die Stickstoffausscheidung gesteigert und ließ auch in der Nachperiode, solange Zucker gegeben wurde, eine Steigerung erkennen im Vergleich zu dem Abschnitt in der Vorperiode, in dem das Tier Zucker bekam.

Bei dem Kaninchen 1 war ebenfalls die Kohlenstoffausscheidung in allen Perioden durchschnittlich die gleiche, und die Quotientänderungen kamen vor allem durch Veränderungen in der Stickstoffausfuhr zustande, die sich unter der Insulinwirkung hob. Bei dem Kaninchen 2 war die Kohlenstoffausscheidung in der Vorperiode und in der Insulinperiode ungefähr dieselbe, aber die Stickstoffausscheidung war in der Insulinperiode vermindert. In der Nachperiode erhöhte sich aber die Kohlenstoffausscheidung beträchtlich, während die Stickstoffausscheidung nur den Wert der Vorperiode wieder erreichte.

Tabelle I. Kaninchen Nr. 1.

Datum	Körpergewicht g	Harnmenge ccm	Gesamt-C g		Gesamt-N g		C : N		Bemerkungen
28. VIII.	1960	300	1,800		0,840		2,140		
29. VIII.	1920	200	0,364		0,336		1,080		
30. VIII.	—	400	1,136		0,560		2,030		
31. VIII.	1980	260	0,726	0,9933	0,364	0,4722	1,990	2,118	
1. IX.	1985	300	0,906		0,284		3,190		
2. IX.	—	—	—		—		—		
3. IX.	2000	229	1,028		0,449		2,280		
4. IX.	—	—	—		—		—		
5. IX.	2000	385	0,457		0,539		0,847		1 Einheit Insulin
6. IX.	2000	350	0,757		0,396		1,911		täglich zweimal
7. IX.	2000	310	0,827	0,9887	0,356	0,5517	2,323	1,805	
8. IX.	1950	362	—		—		—		2 Einheiten
9. IX.	2000	520	1,239		0,728		1,701		Insulin
10. IX.	2050	360	0,942		0,605		1,557		täglich zweimal
11. IX.	2100	350	1,710		0,686		2,492		
12. IX.	2100	525	1,487		0,500		2,972		
13. IX.	2150	220	0,951		0,399		2,383		
14. IX.	2200	650	1,998		0,930		2,148		
15. IX.	2150	160	0,561	1,0076	0,268	0,4473	2,093	2,365	
16. IX.	2250	209	0,554		0,501		1,105		
17. IX.	2300	260	0,503		0,291		1,728		
18. IX.	2300	216	0,999		0,242		4,128		

Tabelle II. Kaninchen Nr. 2.

Datum	Körpergewicht g	Harnmenge ccm	Gesamt-C g		Gesamt-N g		C : N		Bemerkungen
16. IX.	1800	105	0,299		0,560		0,534		
17. IX.	1800	120	0,282		0,268		1,052		
18. IX.	1800	130	0,570		0,249		2,289		
19. IX.	1750	140	0,574		0,352		1,630		
20. IX.	—	475	1,592	0,8516	0,532	0,4691	2,992	1,791	
21. IX.	1900	270	0,321		0,504		0,637		
22. IX.	1800	496	1,427		0,577		2,473		
23. IX.	1700	400	1,178		0,524		2,248		
24. IX.	1700	470	1,422		0,656		2,167		
25. IX.	1750	371	0,491		0,189		2,597		
26. IX.	—	422	0,450		0,177		2,542		1 Einheit Insulin
27. IX.	1800	310	0,882		0,434		2,032		täglich zweimal
28. IX.	1800	274	0,847	0,8654	0,537	0,4268	1,577	2,128	
29. IX.	1750	315	0,893		0,529		1,688		
30. IX.	1700	310	1,414		0,547		2,585		
1. X.	1800	268	1,081		0,575		1,880		
2. X.	1800	349	1,290		0,583		2,212		
3. X.	1850	409	1,508		0,458		3,292		
4. X.	1850	280	0,934		0,313		2,984		
5. X.	1850	410	1,655	1,504	0,574	0,4523	2,883	3,434	
6. X.	1850	420	1,722		0,471		3,656		
7. X.	1850	441	1,873		0,446		4,199		
8. X.	1850	287	1,546		0,321		4,816		

Tabelle III. Kaninchen Nr. 3.

Datum	Körpergewicht g	Harnmenge ccm	Gesamt-C g		Gesamt-N g		C : N		Bemerkungen
6. I.	2250	450	1,384 34		1,0080		1,3734		
7. I.	2200	530	1,065 30		1,0388		1,0255		
8. I.	2150	445	1,229 00		1,1214		1,0959		
9. I.	2150	400	1,060 00		0,6720		1,5803		
10. I.	2200	460	1,004 87		0,6440		1,5603		
11. I.	2200	440	0,981 59		0,7192		1,3648		
12. I.	2170	430	1,025 98	1,107 29	0,9632	0,8809	1,0444	1,292 08	
13. I.	2200	550	1,111 49		0,4620		2,4058		Traubenzucker 3,0 g pro Kilogramm mit 30 ccm destilliertem Wasser (per os)
14. I.	2200	370	0,766 90		0,4144		1,8513		
15. I.	2200	530	1,447 96		0,4452		3,2523		
16. I.	2200	435	1,016 60		0,4872		2,0866		
17. I.	2200	500	1,140 00	1,096 59	0,5600	0,4737	2,0357	2,326 34	
18. I.	2270	355	1,272 18		0,3976		3,1996		4 Einheiten Insulin mit Traubenzucker wie oben
19. I.	2200	545	1,160 85		0,4578		2,5357		
20. I.	2170	445	1,118 95	1,183 99	0,3738	0,3764	2,9934	2,9096	
21. I.	2200	450	1,065 15		0,5040		2,1133		6 Einheiten Insulin mit Traubenzucker wie oben
22. I.	2200	500	1,209 50		0,7700		1,5707		
23. I.	2200	455	0,951 77		0,5096		1,8676		
24. I.	2200	490	0,957 95		0,6860		1,3964		
25. I.	2200	430	1,091 77		0,5418		2,0132		
26. I.	2200	370	0,837 53		0,4144		2,0210		
27. I.	2200	420	0,978 18		0,6468		1,5123		
28. I.	2250	480	1,117 92	1,026 22	0,4704	0,5678	2,3765	1,8589	
29. I.	2250	460	1,144 02		0,5152		2,2205		8 Einheiten Insulin mit Traubenzucker wie oben
30. I.	2200	510	1,418 82		0,5712		2,4838		
31. I.	2220	440	1,317 36		0,4928		2,6305		
1. II.	2200	440	1,186 68	1,264 72	0,4312	0,5026	2,7520	2,5217	
2. II.	2250	450	1,092 15		0,7560		1,4446		
3. II.	2220	420	1,131 48		0,5780		1,9575		
4. II.	2200	425	1,133 52	1,119 05	0,5355	0,6232	2,1167	1,8396	
5. II.	2200	400	1,162 80		0,5040		2,3071		Ohne Traubenzucker
6. II.	2250	460	1,131 60		0,5152		2,1964		
7. II.	2250	390	1,110 40		0,5460		2,0337		
8. II.	2250	455	1,265 81	1,167 65	0,7644	0,5824	1,6559	2,0482	

Es ist bemerkenswert, daß das Insulin beim normalen Organismus die Ausscheidung des dysoxydablen Kohlenstoffs in seinen absoluten Mengen durch den Harn praktisch fast gar nicht beeinflußt. Bei den drei Kaninchen war nur in einem Falle, und zwar bei dem Kaninchen 2 auch nur in der Nachperiode die Ausscheidung des dysoxydablen Kohlenstoffs deutlich vermehrt. Eine Verminderung des dysoxydablen Kohlenstoffs wurde in keinem Falle unter der Insulinwirkung beobachtet. Im Gegensatz dazu ruft das Insulin bei Krankheitszuständen mit Oxydationsstörungen am Kohlenstoff, bei denen also der dysoxydable Harnkohlenstoff vermehrt ist, eine Senkung desselben hervor, indem es die Oxydation am intermediären Kohlehydrat-

stoffwechsel verbessert. Das gilt sowohl für den Zucker, wie auch für andere Quoten des vermehrten dysoxydablen Harnkohlenstoffs. Beim normalen Körper beeinflußt das Insulin im Gegensatz zu dem oben geschilderten kranken Körper in erster Linie den Stickstoffumsatz. Dieser kann bald erhöht, bald gesenkt werden. Auch bei dem kranken Körper wird der Stickstoffumsatz durch Insulin beeinflußt, aber im Mittelpunkt der Erscheinung steht hier doch jedenfalls die Wirkung auf den Kohlehydratumsatz.

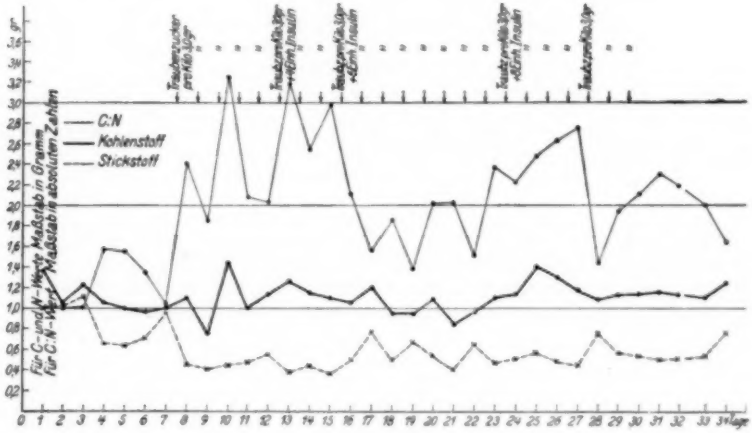


Abb. 1.

Aus meinen Versuchen geht also nun hervor, daß der dysoxydable Kohlenstoff in bezug auf seine absoluten Mengen im Harn in der Norm durch Insulin nicht verändert wird. Außer den hier besprochenen Versuchen habe ich noch einige andere Versuche an Kaninchen und Hunden in derselben Richtung unternommen, die aber kein anderes Resultat hatten als die hier mitgeteilten.

Aus der Zusammenstellung der Literatur über die Insulinwirkung von *Grevenstuk* und *Laqueur* (5) geht hervor, daß beim gesunden Kaninchen die Insulininjektion zunächst etwa in der ersten halben Stunde den Gaswechsel unverändert läßt, daß dann aber bei gleichbleibendem Sauerstoffverbrauch der respiratorische Quotient etwas ansteigt. Beim gesunden Menschen wird der Grundsatz durch Insulin überhaupt nicht, der respiratorische Quotient nur ausnahmsweise im Sinne einer Erhöhung verändert. Es ist schwer, heute schon ein endgültiges Urteil über die Wirkung des Insulins auf den Gaswechsel beim normalen Körper abzugeben. Denn die vorliegenden Versuche haben nicht immer eindeutige Resultate gegeben. Es scheint aber doch nach den besten der vorliegenden Versuche die Sache so zu sein, daß durch die Insulininjektion beim normalen Tier der Grundumsatz nicht verändert wird und der respiratorische Quotient entweder

unverändert bleibt oder eine geringe Steigerung erkennen läßt. Das alles gilt natürlich nur für den Fall, daß durch die Insulinwirkung nur die Blutzuckersenkung, aber nicht die übrigen toxischen Wirkungen, die sogenannten hypoglykämischen Krämpfe hervorgerufen werden.

Da nun auch bei meinen Versuchen sich keine Veränderungen in einer ganz bestimmten Richtung, insbesondere keine Herabsetzung in der Menge des dysoxydablen Harnkohlenstoffs in der Norm ergeben haben, folgt auch daraus in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Gaswechseluntersuchung, daß gröbere Veränderungen in der Oxydation beim normalen Körper durch die Insulininjektion nicht hervorgerufen werden. *Grevenstuk* und *Laqueur* haben ganz recht, wenn sie das Verschwinden des Blutzuckers unter dem Einfluß der Insulininjektion beim normalen Tiere in erster Linie in der Weise deuten, daß durch eine Bindung des freien Zuckers in irgend einer Form der Reduktionswert des Blutes herabgesetzt wird.

Literatur.

1) *Bickel* und *Collazo*, Deutsch. med. Wochenschr. 1923, Nr. 45. — 2) *Bickel* und *Kauffmann-Cosla*, diese Zeitschr. **166**, 1925. — 3) *L. Rosenwald*, ebendaselbst **168**, 324, 1926. — 4) *Gomez*, ebendaselbst **167**, 1926. — 5) *Grevenstuk* und *Laqueur*, Insulin, Verlag Bergmann, 1925.

Über Fettspaltvermögen und Cholesteringehalt im Blutserum bei Luetikern.

Von

H. v. Weiss und **M. Dörle.**

(Aus der medizinischen Universitäts-Poliklinik, Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 27. Februar 1926.)

In unseren Untersuchungen über das Fettspaltvermögen im Blutserum von Hypertonikern und Arteriosklerotikern (*Dörle* und *v. Weiss*, 1926) konnten wir einen Zusammenhang zwischen herabgesetztem Fettspaltvermögen und Hypercholesterinämie feststellen. Herabgesetztes Fettspaltvermögen ergab sich bei einigen unter unserem damaligen Material befindlichen Fällen von Lues und Metalues. Eine Nachprüfung dieser letzteren Beobachtung an größerem Material ist Gegenstand vorliegender Untersuchungen.

Über herabgesetztes Fettspaltvermögen bei zwei Fällen von Lues berichtete erstmalig *Bauer* 1912. Über erhöhten Cholesteringehalt im Serum Luetischer finden sich mehrfach Angaben in der Literatur. So fanden *Klein* und *Dinkin* 1914 bei zwei Dritteln ihrer Fälle eine deutliche Cholesterinvermehrung im Durchschnitt auf 239 mg in 100 ccm Serum. Ähnliche Befunde erhoben *Stein* 1914, *Přibram* 1914 und *Jakobi* 1915 insbesondere bei Metalues. Der Einfluß des Cholesterinspiegels auf den Ausfall der Wassermannreaktion im Blutserum wurde von verschiedenen Autoren geprüft, so von *Carbone* und *Nizzi* 1913 und 1914, die durch Zusatz von Cholesterinlösungen den Ausfall der Wassermannreaktion von negativ in positiv verwandeln konnten. Sie hielten die bei der Wassermannreaktion wirksame Substanz für Cholesterin und fanden dieses bei der Ausfällung zu vier Fünfteln an die Globulinfraktion gebunden. Auch *Berczeller* und *Schillinger* fanden 1918, daß zum Zustandekommen der Wassermannreaktion Lipoide und eiweißartige Bestandteile nötig sind.

Unsere Methodik war die auch bei den bisherigen Untersuchungen benutzte. Das Fettspaltvermögen wurde mit dem *Traube*schen Stalagmometer bestimmt; der auch beim Gesunden ziemlich wechselnde Wert ist im Durchschnitt auf 5 bis 10 Tropfen anzunehmen. Der Cholesteringehalt wurde kolorimetrisch nach *Autenrieth* bestimmt. Der Durchschnittswert beim Gesunden beträgt hier etwa 120 bis 160 mg in 100 ccm Serum.

Für die Überlassung des größten Teils der von uns untersuchten Seren aus der serologischen Abteilung der Freiburger Hautklinik sind wir Herrn Professor Dr. *Rost* sehr zu Dank verpflichtet.

Unsere Untersuchungen umfaßten insgesamt 95 Patienten. Bei 56 bestand eine seropositive Lues, bei 23 eine klinisch sichere, jedoch seronegative Lues. Bei 16 Kontrollfällen bestand keine luetische Erkrankung.

Die Ergebnisse sind im einzelnen folgende:

I. Seronegative Lues (23 Fälle).

Tabelle I.

Nr.	Alter Jahre	Geschlecht	Fettspaltvermögen	Cholesterin in 100 ccm Serum mg	Bemerkungen
27	65	♂	1½	260	P. A. Spir. ++
28	30	♂	0	250	P. A. Spir. ++
30	35	♂	0	280	P. A. in Salv.-Kur
4	35	♂	4	128	Lu II, Ende 7. Salv.-Kur
5	25	♂	9	120	Lu II, Beginn 2. Kur
13	33	♂	2½	210	Lu II, lat.
26	34	♂	0	342	Lu lat., in 5 Jahren 4 Kuren
32	26	♂	0	290	Lu lat., 2. Kur
33	31	♀	0	334	Lu lat.
34	30	♂	0	266	Lu lat., Ende 3. Kur
41	28	♂	0	316	Lu II, 3 kombinierte Kuren
42	30	♂	4	166	Lu II
45	22	♀	0	306	Lu, Frühgeburt M 2
84	27	♀	2	202	Lu, lat., 4 Kuren
85	42	♀	½	278	Lu III, Infekt. 1919, seitdem 3 Kuren
86	50	♂	0	218	Lu lat., 6 Kuren seit 1914
88	30	♂	0	294	La lat.
90	32	♀	3½	170	Lu lat., 2 Kuren
91	28	♀	4	294	Lu lat.
94	35	♂	1½	290	Lu lat., 4 Kuren
102	35	♂	6	240	Lu II, 5. Kur
101	37	♀	3	162	Lu lat.
103	28	♂	3½	222	Lu lat.

Wir finden also in 21 Fällen ein vermindertes oder aufgehobenes Fettspaltvermögen, in zwei Fällen ist es in normalen Grenzen. Der Durchschnitt aller Fälle, 1,97, ist also stark herabgesetzt.

Der Cholesterinwert ist in 18 Fällen stark erhöht (180 bis 342 mg), in fünf Fällen normal (128 bis 170 mg). Der Durchschnitt aller Fälle ist stark erhöht, 245 mg in 100 ccm Serum.

Es erscheint uns bemerkenswert, daß die drei am Anfang stehenden Fälle von sicherem Primäraffekt und noch negativer Seroreaktion ein fast aufgehobenes Fettspaltvermögen und stark erhöhten Cholesterinspiegel zeigen. Auf Fall 5, der ein entgegengesetztes Verhalten zeigt, wird später eingegangen werden.

II. Seropositive Lues (56 Fälle).

Zusammenhänge zwischen den Abstufungen und Arten der positiven Serumreaktion (*Wassermann, Sachs-Georgi, Dold, Stern*) einerseits und Fettspaltvermögen und Cholesterinspiegel andererseits waren nicht festzustellen. Wir haben deshalb die feineren serologischen Differenzen der nun folgenden positiven Fälle nicht angeführt.

Tabelle II.

Nr.	Alter Jahre	Geschlecht	Fettspalt-Vermögen	Cholesterin in 100 ccm Serum mg	Bemerkungen
8	38	♂	2	240	Lu lat.
16	20	♀	2	240	Chorioiditis luetica
19	56	♂	1	388	Frische Lu 2
18	20	♂	3	168	Lu congenit? Vater hat Tabes.
20	23	♀	2	288	Frühgeburt im 7. Monat, Lu II
21	50	♀	5	166	Vor 20 Jahren Lu, jetzt Ca uteri
22	24	♂	0	244	Lu II + Go.
23	34	♂	0	340	Lu II + Go.
24	25	♂	0	346	Lu II in Kuren
25	50	♂	1	236	Lu III, vitium cordis
31	21	♂	0	210	Ulcus mixt.
35	33	♀	3	166	In 12 Jahren 3 Kuren
36	63	♂	0	318	Lu III, 5 Kuren
37	23	♂	1	310	Ende 3. Kur
39	25	♂	0	348	Lu II, früher 2 Kuren
40	29	♂	2	222	Lu II, Beginn 2. Kur
44	41	♂	0	166	Lu lat.
51	40	♂	0	340	Lu II
52	27	♀	0	284	Lu lat.
50	20	♂	0	342	Lu II
53	22	♂	0	310	Lu II
54	55	♂	1	289	Lu II + Skabies.
56	35	♂	2	240	Lu II
57	36	♀	1½	165	Lu II, 5. Kur
58	43	♂	1	184	Lu Dermatidis
59	58	♂	2½	222	Lu III
60	25	♂	0	150	Lu lat.
61	30	♀	0	176	Lu lat.
63	25	♀	0	243	Lu II
66	26	♂	1	256	Lu lat.
68	28	♂	0	158	Lu II
69	23	♂	5½	240	Lu II, Beginn 5. Kur
70	32	♂	2½	270	Lu II, Ende 2. Kur
71	24	♀	3	282	Lu lat., 2. Kur
72	25	♀	4	188	Lu II, Anfang 2. Kur
73	21	♀	4	226	Lu II, 3. Kur
74	30	♀	1	150	Lu II
75	27	♀	½	216	Lu II
76	60	♀	1½	276	Lu lat.
78	24	♀	0	212	Lu lat.
80	47	♀	0	140	Lu II
81	32	♀	0	206	Dementia paralytica
82	28	♀	0	212	Lu lat.

Tabelle II (Fortsetzung).

Nr.	Alter Jahre	Geschlecht	Fettspaltvermögen	Cholesterin in 100 ccm Serum mg	Bemerkungen
83	18	♀	0	220	Lu II, 1. Kur
87	19	♀	0	226	Lu II, 1. Kur
89	35	♂	2	270	Lu cerebri, Ende 1. Kur
92	24	♂	0	240	Lu II, 1. Kur
93	17	♀	5	140	Lu II, Ende 5. Kur
98	42	♀	0	180	Lu II
99	40	♂	3	168	Paralyse
100	15	♀	0	165	Lu conegnit.
101	28	♀	3	198	Lu lat.
77	19	♀	0	210	Lu congenit., Ende 7. Kur
79	13	♀	0	260	Lu congenit.
97	12	♀	3	180	Lu congenit.
62	53	♂	8	98	Lu cerebri? Neuere Lues?

Wir finden also normales Fettspaltvermögen (Fall 5 bis 8) in nur drei Fällen, in den 53 anderen Fällen ist es vermindert oder aufgehoben, der *Durchschnittswert* sämtlicher Fälle ist 1,43. Der Cholesterinwert ist in 14 Fällen nicht vermehrt (unter 180 mg), in 42 Fällen stark vermehrt (bis 388 mg). Der *Durchschnittswert* sämtlicher Fälle beträgt 233 mg.

Besonders hinzuweisen ist auf die am Ende der Tabelle stehenden Fälle von kongenitaler Lues (Fall 77, 79, 97, 100). Trotz der Jugend der Patientinnen ist das Fettspaltungsvermögen in drei Fällen aufgehoben, im vierten stark herabgesetzt. Der Cholesterinspiegel ist im Fall 100 an der oberen Grenze der Norm, bei den Fällen 77, 79, 97 erhöht.

Als letzten Fall haben wir 62 angeführt, der ebenso wie Fall 5 der Tabelle I ein hohes Fettspaltvermögen bei niederem Cholesteringehalt zeigt, somit unseren sonstigen Ergebnissen widerspricht. Eine Erklärung dafür vermögen wir nicht zu geben; sie wäre vielleicht zu finden in der Auffassung *Bergels*[1]), der ein mit der Steigerung des Immunitätsgrades parallel gehendes Fettspaltvermögen annimmt. Im Gegensatz dazu ergeben unsere Untersuchungen bei 74 von 79 Luesfällen ein herabgesetztes oder aufgehobenes Fettspaltvermögen.

Einen Einblick in den Zusammenhang der verschiedenen von uns registrierten Reaktionen könnte wohl nur eine häufig wiederholte Untersuchung an einer größeren Zahl von Fällen geben. Wir hatten nur bei drei Fällen Gelegenheit zu wiederholter Untersuchung, deren Ergebnis Tabelle III gibt.

Eine eindeutige Verschiebung von Fettspaltvermögen und Cholesterinspiegel mit der Änderung der serologischen Reaktionen ist hier nicht festzustellen, jedoch scheint bei Fall *M.* und *F.*, sowie bei den Fällen 69, 71, 72, 73, 90, 93, 102 unter dem Einfluß energischer Behandlung ein relativ hohes Fettspaltvermögen sich eingestellt zu haben. Bei der Komplikation der Verhältnisse durch die Beeinflußbarkeit von Fettspaltvermögen und Cholesterinspiegel durch anderweitige, vor allem Hautinfektionen und alimentäre Zustände läßt sich jedoch nur von großen und oft wiederholten Reihenuntersuchungen eine Klärung des Zusammenhangs erwarten.

[1]) *Bergel*, Münch. med. Wochenschr. 1926, S. 140.

Tabelle III.

Fall	Geschlecht	Alter Jahre	Datum	WaR	SGg	Stern	Dold	Fettspaltvermögen	Cholesterin in 100 ccm Serum mg	Bemerkungen
M.	♂	25	1. XII.	++	—	Kl. los.	—	0	348	Lu II. vor 2 Jahren Salv.-Kur.
			4. XII.	++	++	„ „	++	0	240	Salv. + Bi.
			6. I.	++	+	++	++	$4^1/_2$	282	
F.	♂	25	?	—	—	—	—	0	250	P. A. Spir. ++
			8 Tage später	++	++	++	++	2	240	Inzw. Beg. mit Salv.-Kur.
H.	♂	22	?	++	+	+	+	5	208	Lu II. Inf. vor 2 Jahren
			1 Monat später	++	++	++	++	0	310	Salv. + Bi.-Kur
				++	++	++	++	0	278	

Die starken Schwankungen der von uns beobachteten Seroveränderungen gehen auch aus unseren nicht luetischen Kontrollfällen hervor.

Tabelle IV.

Kontrollfälle.

Nr.	Alter Jahre	Geschlecht	Fettspaltvermögen	Cholesterin in 100 ccm Serum mg	Diagnose
2	45	♀	6	138	?
3	36	♀	6	124	?
6	25	♂	$8^1/_2$	132	?
7	56	♂	$1^1/_2$	188	Skabies
11	21	♂	6	178	Sexual-Neurasthenie
9	14	♀	3	218	Skabies
12	35	♀	5	163	Ge z. B. Lu
14	17	♀	8	150	?
29	59	♀	$5^1/_2$	128	Hysterie — Neurasthenie
43	31	♂	$3^1/_2$	256	Leichte Grippe, vor $^1/_4$ Jahr in mehrmaliger Unters. FSV = 10
49	22	♂	6	150	Schizophrenie
55	52	♂	5	210	Ikterus
67	28	♀	10	140	Neurasthenie
15	52	♀	3	210	Klimax
95	36	♀	$3^1/_2$	125	Geistesstörung
96	22	♀	$3^1/_2$	160	z. B. Lu

Wir finden somit bei den Kontrollfällen trotz der Beeinflussung durch andere Erkrankungen einen wesentlichen höheren Durchschnittswert für das Fettspaltvermögen (von $1^1/_2$ bis 10); der niedrigste Wert $1^1/_2$ findet sich bei einem 56jährigen Skabiespatienten; auch der andere, nur 14jährige Skabiespatient zeigt herabgesetztes Fettspaltungsvermögen und erhöhten Cholesterinspiegel. Die anderen Fälle mit stärkeren Abweichungen von der Norm betreffen einen leichten Grippefall (43), einen Fall von Ikterus und einen Fall von klimakterischen Störungen (15), wo diese Veränderungen, wie

andererorts erwähnt, außerordentlich häufig sind. Ebenso ist bei Ikterus die Erhöhung des Cholesterinspiegels schon beschrieben. Durch diese letztgenannten Fälle ist der durchschnittliche Cholesterinwert, 166 mg, etwas über die sonst beschriebene Norm erhöht.

Der Unterschied der bei den Kontrollfällen gefundenen Durchschnittswerte von den Durchschnittswerten bei Lues ist jedoch so augenfällig, daß uns trotz Schwankens der Befunde bei einzelnen Fällen die Tendenz zur Erhöhung des Cholesterinspiegels und noch ausgesprochener zu starker Verminderung des Fettspaltvermögens bei Lues bewiesen erscheint. Der Zusammenhang zwischen Herabsetzung des Fettspaltvermögens und Erhöhung des Cholesterinspiegels ist jedoch nicht so ausgeprägt, wie bei arteriosklerotischer und essentieller Hypertonie. Wir finden bei Lues relativ häufig stark herabgesetztes Fettspaltvermögen bei annähernd normalem Cholesterinspiegel.

Zusammenfassung.

1. Bei seronegativer, klinisch sicherer Lues (23 Fälle) ist das Fettspaltvermögen in 2 Fällen normal, in 21 Fällen vermindert oder aufgehoben. Der Cholesteringehalt des Serums ist in 5 Fällen normal, in 18 erhöht. Bei drei Primäraffekten sind die Veränderungen besonders ausgeprägt. Der Durchschnittswert aller Fälle beträgt für Cholesterin **245 mg** in 100 ccm Serum, für Fettspaltvermögen **1,97 mg.**

2. Bei seropositiver Lues (56 Fälle) finden wir das Fettspaltvermögen in 3 Fällen normal, in 53 Fällen vermindert oder aufgehoben. Der Cholesterinspiegel ist in 14 Fällen normal, in 42 stark erhöht. Die Durchschnittswerte betragen für Fettspaltvermögen **1,43 mg**, für Cholesterin **233 mg** in 100 ccm Serum.

3. Bei einigen unserer zum Teil wiederholt untersuchten Fälle finden wir bei hohem Cholesterinspiegel ein relativ hohes Fettspaltvermögen, das wahrscheinlich auf den Einfluß energischer Behandlung zurückzuführen ist.

4. Als Kontrolle untersuchte Fälle anderer Erkrankungen ergaben für Cholesterin 166 mg, für Fettspaltvermögen 5,25 mg als Durchschnittswert.

5. Bei Lues aller Stadien ist eine deutliche Tendenz zur Verminderung des Fettspaltvermögens festzustellen. Die schon früher beschriebene Erhöhung des Cholesterinspiegels ist bei drei Vierteln unserer Fälle vorhanden, jedoch nicht so häufig und weniger ausgesprochen als die Verminderung des Fettspaltvermögens.

Literatur.

J. Bauer, Wien. klin. Wochenschr. 1912, S. 1376. — *Carbone* und *Nizzi*, Biochemica 1913 und 1914. — *L. Berczeller, A. Schillinger*, diese Zeitschr. **90**, 1918. — *M. Dörle* und *H. v. Weiss*, ebendaselbst **167**, 1926. — *E. Fränkel*, Münch. med. Wochenschr. **1919**. — *J. Jakobi*, Festschr. f. Prof. *Lechner Kolozwar* 1915. — *W. Klein, L. Dinkin*, Zeitschr. f. phys. Chem. 1914.

Über die Oxydation der Oxalsäure durch Jodsäure in wässeriger Lösung.

Von

Shigeru Toda.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 2. März 1926.)

Mit 9 Abbildungen im Text.

I. Historisches.

Im Jahre 1844 beobachtete *E. Millon*[1]), daß die oxydierende Wirkung der Jodsäure auf organische Substanzen ausbleibt, wenn man dem Reaktionsgemisch eine kleine Menge Blausäure hinzufügt. Zucker, Ameisensäure oder Oxalsäure, die in wässeriger Lösung von Jodsäure angegriffen werden, bleiben bei Gegenwart „fast homöopathischer" Mengen an Blausäure unverändert.

Weder *Millon* noch spätere Autoren, die sich mit der Erscheinung beschäftigten, haben eine Erklärung gefunden. In seiner bekannten Arbeit über die Wirkung der Blausäure auf die lebendige Substanz führt *Geppert*[2]) die *Millon*schen Systeme als Analoga an und meint, man würde die Wirkung der Blausäure auf die lebendige Substanz wohl verstehen, wenn man erst *Millons* Beobachtung erklären könnte.

II. Fragestellung.

Wir beschäftigen uns im folgenden mit dem übersichtlichsten der *Millon*schen Systeme, mit dem System Jodsäure—Oxalsäure, das in wässeriger Lösung bei Zimmertemperatur nach der Bilanzgleichung reagiert:

$$2\,HJO_3 + 5\,H_2C_2O_4 = 6\,H_2O + 10\,CO_2 + J_2.$$

Da dieser Vorgang durch Blausäuremengen gehemmt wird, die gegen die Mengen an Jodsäure oder Oxalsäure zu vernachlässigen sind, so ist von vornherein klar, daß der Blausäurewirkung weder eine Reaktion mit Jodsäure noch eine Reaktion mit Oxalsäure zugrunde liegt. Vielmehr muß in Jodsäure—Oxalsäurelösungen eine Substanz

[1]) C. r. **19**, 270, 1844.

[2]) Über das Wesen der Blausäurevergiftung. Berlin, A. Hirschwald, 1889.

vorhanden sein, die in einem stöchiometrischen Verhältnis zu der hemmenden Blausäuremenge steht. Die Substanz muß die Eigenschaft haben, Jodsäure—Oxalsäurelösungen zum Umsatz zu bringen, und muß diese Eigenschaft verlieren, wenn sie sich mit Blausäure verbindet. Ich habe auf Vorschlag von Herrn *Otto Warburg* nach dieser Substanz gesucht und berichte im folgenden über das Ergebnis meiner Versuche.

III. Meßmethoden.

Da bei der Oxydation der Oxalsäure durch Jodsäure als Endprodukt Kohlensäure entsteht, so kann die Geschwindigkeit der Oxydation manometrisch, durch Beobachtung des entwickelten Kohlensäuredrucks, gemessen werden.

Zum Versuch wurden gleiche Volumina n Jodsäure (176 g : 1000 und n Oxalsäure (126/2 g : 1000) gemischt. Je 4 ccm dieses Säuregemisches, das in bezug auf jede Säure n/2 war, wurden in Gefäße von der Form der Abb. 1 eingefüllt. Das Gesamtvolumen der Gefäße, die aus Jenaer Glas hergestellt waren, betrug etwa 30 ccm. Der Einsatz der Gefäße blieb leer, der Gasraum wurde mit Luft gefüllt.

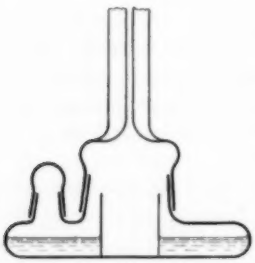


Abb. 1.

Die Gefäße wurden, mit Manometern verbunden, in einen auf 18 bis 19° einstehenden Wasserthermostaten eingehängt und zunächst 10 Minuten geschüttelt, bis Temperatur und Druckgleichgewicht eingetreten war. Dann wurden die auftretenden positiven Drucke beobachtet, die von der Entwicklung der Kohlensäure herrührten. Die Gefäßkonstanten[1]) für Kohlensäure (k_{CO_2}) waren etwa 2,7, was bedeutet, daß 1 mm Druckzunahme die Entwicklung von 2,7 cmm Kohlensäure anzeigte.

IV. Vorversuche.

Vorversuche stellte ich an, indem ich gleiche Mengen des n/2 Jodsäure—Oxalsäuregemisches in Reagenzgläser einfüllte und den Fortschritt der Reaktion an der zunehmenden Braunfärbung beobachtete, die von dem ausgeschiedenen Jod herrührte. Es sei bemerkt, daß diese einfache Anordnung für Blausäureversuche nicht geeignet ist, da Blausäure und Jod unter Bildung farblosen Jodcyans reagieren.

Es zeigte sich bei den Vorversuchen, daß die Reaktion zwischen Oxalsäure und Jodsäure durch Metallsalze beschleunigt wird. Am

[1]) Vgl. diese Zeitschr. **100**, 230, 1919. $\left(k_{CO_2} = \frac{v_G \frac{273}{T} + v_F \alpha_{CO_2}}{P_0}\right)$.

wirksamsten erwiesen sich Eisen- und Kobaltsalze, die in einer Konzentration von n/10000 deutlich beschleunigten. Weniger wirksam waren Mangan- und Kupfersalze.

V. Quantitative Versuche mit ungereinigter Jodsäure und Oxalsäure.

Unter „ungereinigter" Jodsäure und Oxalsäure verstehe ich die reinsten *Kahlbaum*schen Präparate. Tabelle I und Abb. 2 zeigen den Verlauf eines manometrischen Versuchs. Die Geschwindigkeit der Reaktion nimmt im Laufe von 3 Stunden langsam zu, 4 ccm des Säuregemisches haben nach 3 Stunden etwa 450 cmm Kohlensäure entwickelt, der Manometerausschlag in dieser Zeit beträgt etwa 170 mm.

Tabelle I.

4 ccm n/2 Jodsäure—Oxalsäure (ungereinigt), Temperatur 18,0° C.

t Minuten	CO_2 im cmm	5proz. KOH im Einsatz cmm	t Minuten	CO_2 in cmm	5proz. KOH im Einsatz cmm
0	0,0	0,0	100	181,7	0,0
20	21,8	0,0	120	240,0	0,0
40	50,7	0,0	140	299,9	0,0
60	88,8	0,0	160	366,5	0,0
80	133,6	0,0	180	444,9	0,0

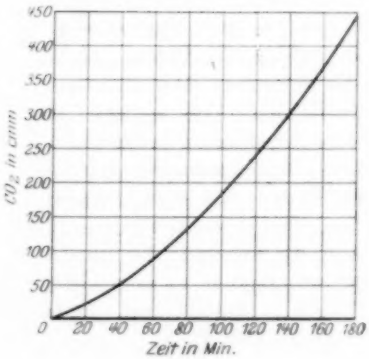


Abb. 2.

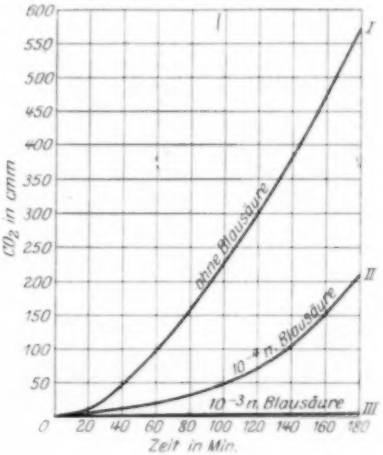


Abb. 3.

Der Versuch der Tabelle I war mit einer Kontrolle verbunden, die entscheiden sollte, ob das entwickelte Gas ausschließlich Kohlensäure sei. Zu dem Zwecke enthielt der Einsatz des Kontrollgefäßes

5proz. Kalilauge. Die Druckänderung in diesem Gefäß war und blieb Null, was beweist, daß sich neben Kohlensäure ein anderes Gas nicht entwickelt.

Tabelle II und Abb. 3 zeigen den Einfluß der Blausäure. n/10000 Blausäure hemmt die Reaktion stark, n/1000 Blausäure hemmt sie fast vollständig.

Tabelle II.

4 ccm n/2 Jodsäure—Oxalsäure (ungereinigt), Temperatur 19,0° C.

	1	3	2		1	3	2
t Min.	Ohne KCN CO_2 in cmm	n/1000 KCN CO_2 in cmm	n/10000 KCN CO_2 in cmm	t Min.	Ohne KCN CO_2 in cmm	n/1000 KCN CO_2 in cmm	n/10000 KCN CO_2 in cmm
0	0,0	0,0	0,0	100	228,7	3,5	48,4
20	10,8	0,0	0,0	120	305,9	3,8	73,1
40	47,3	0,5	12,4	140	381,5	3,5	104,4
60	100,7	2,7	22,4	160	477,4	2,7	153,2
80	158,0	3,0	31,1	180	572,9	3,2	212,2

Die Frage, ob die Wirkung der Blausäure reversibel sei, wurde durch folgende Anordnung entschieden: Ein Säuregemisch, das in bezug auf Blausäure n/1000 war, wurde in zwei Teile geteilt. Ein Teil des Gemisches blieb in geschlossener Flasche stehen, durch den anderen Teil wurde 1 Stunde lang ein schneller Luftstrom geblasen. Dann wurde die Reaktionsgeschwindigkeit in beiden Gemischen manometrisch gemessen. Wie man aus Tabelle III und Abb. 4 sieht, ist die Blausäurehemmung vollkommen reversibel, denn nach der Durchlüftung finden wir eine normale Reaktionsgeschwindigkeit (Kurve II der Abb. 4), während die Reaktionsgeschwindigkeit in dem nicht durchlüfteten Anteil Null ist [1]) (Kurve I der Abb. 4).

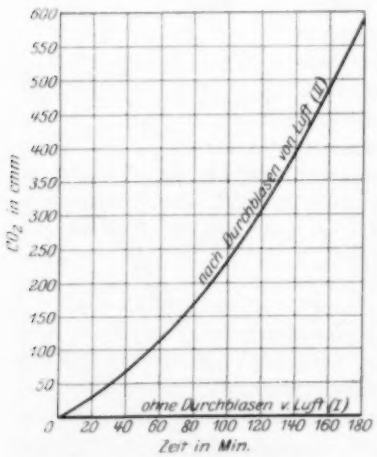


Abb. 4.

[1]) Gegner der Schwermetalltheorie der Atmung führen oft an, daß die Wirkung der Blausäure auf die lebendige Substanz reversibel sei, während die Bindung des Eisens in den Eisencyanwasserstoffsäuren praktisch irreversibel sei. Sie vergessen dabei, daß es neben $H_3Fe(CN)_6$ und $H_4Fe(CN)_6$ noch andere komplexe Blausäuremetallverbindungen gibt.

Tabelle III.

4 ccm n/2 Jodsäure—Oxalsäure (ungereinigt), Temperatur 19,0° C.

t Min.	n/1000 HCN 1 Std. durchlüftet CO_2 in cmm	n/1000 HCN 1 Std. stehengelassen CO_2 in cmm	t Min.	n/1000 HCN 1 Std. durchlüftet CO_2 in cmm	n/1000 HCN 1 Std. stehengelassen CO_2 in cmm
0	0,0	0,0	100	234,9	0,0
20	28,4	0,0	120	307,8	0,0
40	68,3	0,0	140	391,5	0,0
60	112,1	0,0	160	488,7	0,0
80	166,1	0,0	180	588,6	0,0

VI. Reinigung der Jodsäure und Oxalsäure.

Nach dem bisherigen beschleunigt Eisensalz die Reaktion in etwa n/10000 und hemmt Blausäure die Reaktion in etwa n/10000. Weil Blausäure die Reaktion in kleiner Konzentration hemmt, muß eine katalytisch beschleunigte Reaktion vorliegen. Weil Eisen in Konzentrationen von derselben Größenordnung beschleunigt und weil Eisen in allen Laboratoriumspräparaten als Verunreinigung vorkommt, lag die Vermutung nahe, daß der Katalysator der ungereinigten Lösungen Eisen sei.

Zur Prüfung dieser Annahme habe ich die Oxalsäure und die Jodsäure so weit frei von Eisen hergestellt, als dies möglich war. Die Oxalsäure wurde sechsmal aus „eisenfreiem" Wasser umkristallisiert und hinterließ dann nach dem Veraschen keine nachweisbare Menge Eisen mehr. Schwieriger war die Reinigung der Jodsäure, die beim Umkristallisieren immer Eisen mitriß. Nach längeren erfolglosen Reinigungsversuchen ging ich dazu über, die Stoffe, aus denen die Jodsäure hergestellt wird — Jod und Salpetersäure —, zu reinigen und aus den gereinigten Ausgangsstoffen Jodsäure herzustellen.

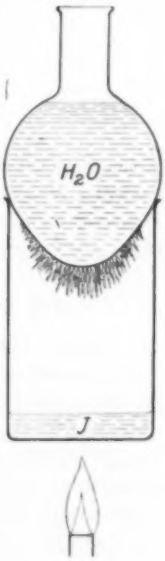


Abb. 5.

Das Jod wurde, wie aus Abb. 5 ersichtlich, sublimiert, und zwar sehr langsam, um ein Mitreißen von Verunreinigungen zu vermeiden. Von den Jodkristallen, die sich an dem mit Wasser gefüllten Kolben ansetzten, wurden nur solche ausgewählt, die die Wand des Kolbens nicht berührten.

Die Salpetersäure wurde langsam aus einem Glaskolben in eine glasurfehlerfreie Porzellanschale destilliert, wobei, wie Abb. 6 veranschaulicht, nur solche Säure aufgefangen wurde, die sich in dem Fraktionierrohr nicht kondensiert hatte. Nur

gasförmige, nicht flüssige Säure gelangte in die vorgelegte Porzellanschale.

Zur Herstellung der Jodsäure wurde das sublimierte Jod mit der zehnfachen Menge der destillierten Salpetersäure in einer glasurfehlerfreien Porzellanschale übergossen, auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft, der bräunliche Rückstand in wenig Wasser gelöst, wieder auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft und bei 110° getrocknet. Dann wurde Aufnehmen mit Wasser und Verdampfen auf dem Wasserbade wiederholt und schließlich im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

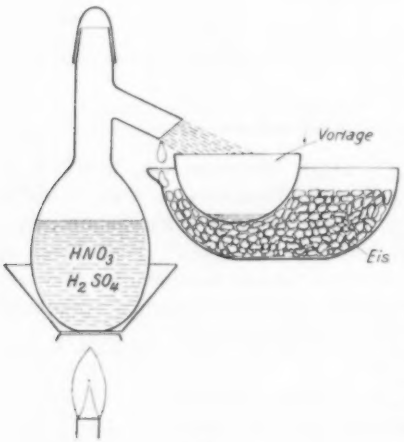


Abb. 6.

Auf diese Weise wurde rein weiße Jodsäure in Mengen von ½ bis 1 g gewonnen. Zur Prüfung auf Eisen wurde im Porzellantiegel geglüht, wobei die Jodsäure sich unter Zersetzung verflüchtigte. Im Rückstand ließ sich kein Eisen nachweisen, was bei der Empfindlichkeitsgrenze der Rhodanreaktion besagt, daß 1 g Jodsäure weniger als 10^{-4} mg Eisen enthielt, während sich in 1 g der ungereinigten Säure immer Eisenmengen von etwa 10^{-3} mg fanden.

VII. Versuche mit gereinigter Jodsäure und Oxalsäure.

Durch die Reinigung sank die Reaktionsgeschwindigkeit des Jodsäure—Oxalsäuregemisches auf rund $^1/_{10}$. Zusatz von 10^{-5} mg Eisen (in Form von Eisensulfat) zu 4 ccm des Säuregemisches hatte einen eben meßbaren, Zusatz von 10^{-4} mg Eisen einen deutlich beschleunigenden Einfluß auf die Reaktion. 10^{-3} mg Eisen, zu 4 ccm des Säuregemisches zugesetzt, stellte etwa die Reaktionsgeschwindigkeit der ungereinigten Lösungen her. Das Gesagte wird belegt durch Tabelle IV und Abb. 7 sowie Tabelle V und Abb. 8.

Blausäure brachte die Wirkung des zugesetzten Eisens zum Verschwinden. Wurde beispielsweise der Umsatz durch Zugabe von Eisen versiebenfacht, so sank er in n/1000 Blausäure auf Null (Tabelle VI und Abb. 9).

Tabelle IV.

4 ccm n/2 Jodsäure—Oxalsäure (gereinigt), Temperatur 18,0° C (vgl. Abb. 7).

Minuten	Kurve I	Kurve II	Kurve III	Kurve IV	Kurve V
	Ohne Fe CO_2 in cmm	10^{-5} mg Fe CO_2 in cmm	10^{-4} mg Fe CO_2 in cmm	$5 \cdot 10^{-4}$ mg Fe CO_2 in cmm	10^{-3} mg Fe CO_2 in cmm
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
20	2,8	5,4	5,6	12,6	23,0
40	8,4	9,5	11,2	28,0	52,7
60	12,6	16,2	18,2	46,2	85,1
80	19,6	23,0	28,0	71,4	124,2
100	26,6	31,1	36,4	96,6	171,5
120	33,6	41,9	51,8	127,4	224,1
140	42,0	50,0	64,4	159,6	283,5
160	50,4	62,1	79,8	197,4	352,4
180	61,6	74,3	96,6	236,6	423,9

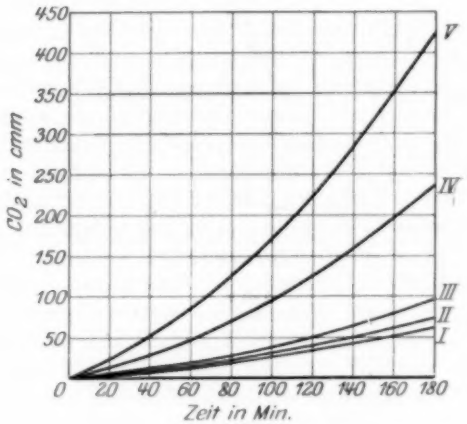


Abb. 7.

Tabelle V.

4 ccm n/2 Jodsäure—Oxalsäure, Temperatur 18,0° C (vgl. Abb. 8).

Minuten	Unrein CO_2 in cmm	Gereinigt CO_2 in cmm	Minuten	Unrein CO_2 in cmm	Gereinigt CO_2 in cmm
0	0,0	0,0			10^{-3} mg F eingekippt
20	23,8	4,1	140	351,4	77,0
40	56,0	10,8	160	435,4	118,8
60	98,0	16,2	180	522,2	167,4
80	147,0	24,3	200	618,8	228,2
100	204,4	31,1	220	721,0	294,3
120	271,6	39,2	240	845,6	379,4

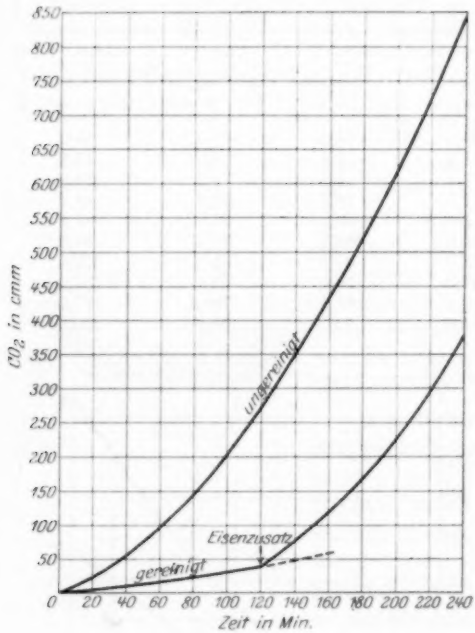

CO_2 in cmm
850
800
750
700
650
600
550
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
20 40 60 80 100 120 140 160 180 200 220 240
Zeit in Min.
ungereinigt
gereinigt
Eisenzusatz

Abb. 8.

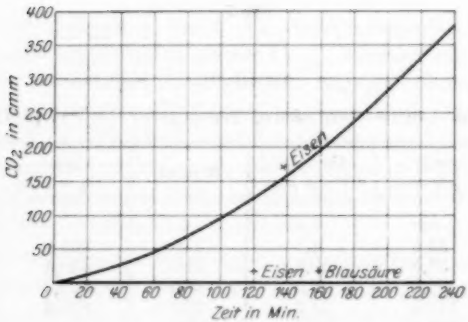

CO_2 in cmm
400
350
300
250
200
150
100
50
0
20 40 60 80 100 120 140 160 180 200 220 240
Zeit in Min.
+ Eisen
+ Eisen + Blausäure

Abb. 9.

Tabelle VI.

4 ccm n/2 Jodsäure—Oxalsäure (gereinigt), Temperatur 18,0° C (vgl. Abb. 9).

Minuten	$+0{,}5 \cdot 10^{-3}$ mg Fe CO_2 in cmm	$+0{,}5 \cdot 10^{-3}$ mg Fe m/1000 KCN CO_2 in cmm	Minuten	$+0{,}5 \cdot 10^{-3}$ mg Fe CO_2 in cmm	$+0{,}5 \cdot 10^{-3}$ mg Fe m/1000 KCN CO_2 in cmm
0	0,0	0,0	140	159,6	0,0
20	12,6	0,0	160	197,4	0,0
40	28,0	0,0	180	236,6	0,0
60	46,2	0,0	200	284,2	0,0
80	71,4	0,0	220	331,8	0,0
100	96,6	0,0	240	379,4	0,0
120	127,4	0,0			

Zusammenfassung.

1. Mindestens 90 Proz. des Umsatzes, den ich in ungereinigten Jodsäure—Oxalsäurelösungen fand, war durch katalytische Wirkung von Eisen hervorgerufen.

2. Mindestens 90 Proz. der Blausäurewirkung, die ich bei Zugabe von Blausäure zu ungereinigten Jodsäure—Oxalsäuregemischen beobachtete, beruhte auf einer Reaktion der Blausäure mit Eisen.

3. Eisenmengen von 10^{-5} mg, gelöst in 4 ccm, können durch ihre katalytische Wirkung auf gereinigte Jodsäure—Oxalsäurelösungen noch nachgewiesen werden, das sind Mengen, die mit den Eisenreagenzien der analytischen Chemie nicht mehr auffindbar sind.

4. Es ist wahrscheinlich, wenn auch nicht zu beweisen, daß schwermetallfreie Lösungen von Jodsäure und Oxalsäure bei Zimmertemperatur nicht reagieren. Der Schluß ist unbeweisbar, weil Eisenmengen, die nicht mehr analytisch nachweisbar sind, einem gereinigten Säuregemisch zugesetzt, den Umsatz beschleunigen. Der Schluß ist wahrscheinlich, weil Blausäure nicht nur die Wirkung des zugesetzten Eisens, sondern den ganzen Umsatz zum Verschwinden bringt. Schwerlich wird man die Annahme in Erwägung ziehen, daß es in Jodsäure—Oxalsäurelösungen zwei Arten von antikatalytischer Blausäurewirkung gibt, eine erste, die 90 Proz. des Umsatzes hemmt und auf einer Reaktion mit Eisen beruht, und eine zweite, die 10 Proz. des Umsatzes hemmt und unbekannter Art ist.

5. Die Wirkung der Blausäure in den Jodsäure-Oxalsäurelösungen ist reversibel.

6. Hinsichtlich der Form, in der das Eisen in den Jodsäure—Oxalsäurelösungen katalytisch wirksam ist, möchte ich die Vermutung äußern, daß es sich um komplexe Eisenverbindungen handelt, an deren Aufbau neben der Jodsäure vielleicht auch die Oxalsäure beteiligt ist. Eine katalytische Wirkung der freien Eisenionen kommt aus vielen Gründen nicht in Frage.

Zur Beeinflussung von bioelektrischen Potentialdifferenzen durch die Röntgenstrahlen.

Von

Adolf Liechti (Bern).

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern und dem therapeutischen Röntgeninstitut des Inselspitals Bern.)

(Eingegangen am 2. März 1926.)

Mit 8 Abbildungen im Text.

Alle die mannigfaltigen Wirkungen, die wir bei Bestrahlungen des menschlichen und tierischen Organismus beobachten, sind bedingt und sicher auch in einer bestimmten graduellen Abhängigkeit von den Primärvorgängen, die sich an der Zelle und deren Milieu am Orte der Strahlenabsorption abspielen.

Der in der Literatur allgemein begangene Weg, aus den sekundären Erscheinungen zurück auf die primären Vorgänge zu schließen, scheint für die Aufklärung des feineren Wirkungsmechanismus der Röntgenstrahlen wenig geeignet zu sein. Er hat auf unzähligen Seitengassen zu Irrtümern geführt. Ich glaube deshalb, daß man mit Vorteil umgekehrt vorgeht, nämlich von dem gesicherten Boden der Physik fortschreitend nach und nach über möglichst einfache und eindeutige physiko-chemische Versuchsanordnungen, die als partielle Phantome für die lebende Zelle gelten dürfen, auf das biologische Gebiet vorstößt.

Ein Strahl kann im Gewebe nur wirken, wenn er absorbiert wird. Die Absorption, der *physikalische Primärvorgang*, ist der erste Akt der Röntgenstrahlenwirkung. Das Wesen der Absorption elektromagnetischer Schwingungen besteht ganz allgemein in einer Veränderung des physikalischen Gefüges der Atome und Moleküle der Materie, in unserem Falle des lebenden Gewebes. Dieser neue Zustand sei vorläufig nur durch die Anwesenheit von energiereicheren Atomen gekennzeichnet. Dieselben sind von vornherein, entsprechend der großen Zahl der einzelnen Absorptionsereignisse, diffus und wohl regelmäßig in dem Gewebe verteilt. Eine Wirkungsmöglichkeit ist also in jedem Punkte der Zelle — gleiche Strahlen und gleiche Substanz vorausgesetzt — in gleicher Weise gegeben. Die energiereicheren Atome können aber an bestimmten Stellen, z. B. an bestimmten Teilen der Zelle oder des Zellverbandes, eine ganz besondere Wirkung, physikalisch-chemischer Art ausüben. Der physikalische Primärvorgang führt also

wahrscheinlich zu einer in bezug auf die Zelle inhomogenen Wirkung. Diese neue Veränderung stellt den zweiten wichtigen, noch nicht aufgeklärten Akt der Strahlenwirkung dar. Ich möchte ihn den *biologischen Primärvorgang* nennen. Er ist die Folge des vorigen und ist charakterisiert und gegeben durch Gestalt und Zusammensetzung der Zelle, ähnlich wie die Absorption gegeben ist durch die Zusammensetzung der Materie. Der Effekt, den der biologische Primärvorgang bewirkt, kann zeitlich mit der Bestrahlung identisch sein, d. h. er kann mit der Bestrahlung beginnen und mit der Unterbrechung derselben enden. Er kann dieselbe aber auch überdauern. Die Vergrößerung des Energieinhalts, die durch diese Zustandsänderung zustande kommt, kann ganz durch die durch den physikalischen Primärvorgang gelieferte Energie gedeckt werden, oder die Strahlung kann nur dazu verwendet werden, um in der Zelle selbst ablaufende thermodynamische Kreisprozesse zu steuern. Die Bestrahlung würde sich dann zum Bestrahlungseffekt, wie Reiz zu Reizerfolg, verhalten.

Alle diese Vorgänge ihrerseits haben, wenn die Intensität der Bestrahlung groß genug war, Veränderungen zur Folge, die den Gesamtstoffwechsel und somit auch den des Zellverbandes stören. Sie sind zellphysiologisch und vielleicht schon morphologisch erfaßbar. Sie überdauern jedenfalls die Bestrahlung oder treten sogar erst nach Unterbrechung derselben auf. Die betroffene Zelle kann sich nach kürzerer oder längerer Zeit wieder restituieren, oder es kann der Tod derselben eintreten. Alle diese Folgen sind *sekundäre Wirkungen am Orte der Strahlenabsorption*. Sie sind besser erforscht als der biologische Primärvorgang, aber schlechter als der physikalische Primärvorgang.

Diese drei ersten Akte, physikalischer und biologischer Primärvorgang, sowie Sekundärwirkung am Orte der Strahlenabsorption, spielen sich lediglich in den primär bestrahlten Gebieten ab.

Durch die veränderte Zellfunktion, die in einem veränderten Stoffwechsel zum Ausdruck kommen muß, muß auch das Milieu verändert werden, der Gewebssaft, weiterhin das Blut.

Diese letzten Veränderungen sind zusammengefaßt unter den Begriff der *sekundären humoralen Strahlenwirkungen*.

Diese ihrerseits können bewirken: 1. Reaktionen im bestrahlten Gebiet (regulatorische, morphologische); 2. Rückwirkungen auf andere Organe (funktionell-regulatorische, morphologische).

Was die Frage des physikalischen Primärvorganges anbelangt, ist derselbe durch die Atom- und Quantentheorie sowie durch die elektromagnetische Lichttheorie weitgehend geklärt. Sein Endeffekt ist für die biologischen Wirkungen in der Emission von β-Strahlen gegeben. Ich (1) habe mit anderen schon früher aus der äußerst geringen Härte der wirksamen Sekundärstrahlung von Metallen auf den Prodigiosus geschlossen, daß die sekundäre β-Strahlung das letzten Endes wirksame Agens darstellen dürfte.

Ein weiterer Beweis, daß diese Überlegung stimmt, liegt in folgendem: *Holthusen* (2) gibt aus theoretischen Gründen für die Abhängigkeit der Elektronenemission von der Ordnungszahl Z der diese emittierenden Elemente eine charakteristische Kurve, die ein Maximum und ein darauffolgendes Minimum zeigt. Dieses Maximum wird bei Änderung der Härte

der Primärstrahlung verschoben, und zwar in dem Sinne, daß bei weicher Primärstrahlung dasselbe nach der Seite des kleineren Z rückt. Bei meinen Versuchen am Prodigiosus habe ich gleich verlaufende Verstärkskurven erhalten. Die *experimentell* erhaltenen Kurven der Wirkungssteigerung decken sich, hinsichtlich ihrer Abhängigkeit sowohl von der Ordnungszahl als auch von der Härte der Primärstrahlung mit den von *Holthusen* für die Elektronenemission *geforderten* Kurven.

Ähnliche Resultate wie bei Bakterien erhielt ich auch am Säugetiergewebe (3).

Man könnte einwenden, daß durch alle diese Versuche doch nur die *Wirkungssteigerung* als β-Strahlenwirkung bewiesen ist. Und daß dabei gar nicht gesagt ist, daß auch die Wirkung der Primärstrahlung auf Korpuskularstrahlen zurückgeführt werden muß. Ich muß dies zugeben. Aber es ist bewiesen, daß jene äußerst weiche Strahlung, die wir als β-Strahlung erkannt haben, jedenfalls eine gewaltige Schädigung herbeiführen kann. Wenn von Metallen emittierte sekundäre β-Strahlen wirken können, dann können es auch die im Gewebe selbst ausgelösten. Wir wissen aber, daß durch harte Strahlen in jedem Körper, also auch im lebenden Gewebe, solche frei gemacht werden. Es steht also der Annahme, daß die β-Strahlen zum überwiegend größten Teil die Strahlenwirkung bedingen, absolut nichts im Wege. Im Gegenteil, ich habe ja gezeigt (l. c.), daß alle die sonst sicher in unseren Versuchen noch auftretenden Wellenstrahlen, Streu- und Fluoreszenzstrahlen, keinen in bezug auf die schädigende Wirkung auf Bakterien wahrnehmbaren Einfluß hat. Ich glaube also damit bewiesen zu haben, daß nicht nur bei der Einzelzelle, sondern auch beim lebenden Gewebe des Säugers die wirksame Strahlung durch die sekundäre β-Strahlung dargestellt wird.

Nachdem aus atomtheoretischen Gründen das Auftreten von freien Elektronen in dem von den Röntgenstrahlen getroffenen Gewebe feststeht, nachdem im biologischen Experiment bewiesen ist, daß durch sekundäre Elektronenstrahlung die Primärstrahlenwirkung bedeutend verstärkt werden kann, und nachdem die größte Wahrscheinlichkeit besteht, daß auch das bei der Primärbestrahlung letzten Endes wirksame Agens die β-Strahlen sind, tritt die weitere Frage auf, wie diese freien Elektronen weiterhin zur biologischen Wirkung gelangen. Wenn, wie in unseren Prodigiosusversuchen die Elektronenstrahlung allein wirksam ist, während die Wellenstrahlung keinen Effekt hat, so ist anzunehmen, daß bei ersteren der Grund für ihre Wirksamkeit in Eigenschaften liegt, die den Wellenstrahlen nicht zukommen. Diese Eigenschaften aber sind: 1. sie haben eine Masse, d. h. ein $mv^2/2$, 2. sie können ihre Energie in beliebigen Teilbeträgen an die Umgebung abgeben, 3. sie haben eine Ladung.

Fassen wir letzteren Punkt näher ins Auge, so liegt es nahe, an jene Vorgänge zu denken, die der Ausdruck von bedeutungsvollen und teilweise bekannten physikalisch-chemischen Vorgängen in der Zelle sind. Zu solchen Vorgängen gehören in erster Linie die elektrischen

Erscheinungen. Wenn überhaupt im Wirkungsmechanismus der Röntgenstrahlen Veränderungen der elektrischen Verhältnisse im Sinne von Ladungsverschiebungen vorkommen, so können diese betreffen 1. die kolloidalen Teilchen, 2. die Phasengrenzen und Membranen.

Auf die Möglichkeit einer Umladung der kolloidalen Teilchen hat wohl als erster *Bordier* (4) aufmerksam gemacht. *Fernau* und *Pauli* (5), sowie *Wels* (6) haben an verschiedenen Kolloiden Trübung und Flockung nach Radiumbestrahlung beobachtet. Jedoch läßt sich für die Veränderungen an Kolloiden durch Röntgen- und Radiumstrahlen nicht eine Umladung allein verantwortlich machen. Sicher spielen auch andere, und zwar chemische Veränderungen eine gewisse Rolle: Dissoziation bei Eiweißen [*Loeb* (7), *Pauli* (8)], Quellung [*Schick* und *Martin* (9), *Schaudinn* (10)]. Wenn eine Ladungsveränderung der Kolloide statthat, so müssen wir auch eine Veränderung der elektrokinetischen Erscheinungen beobachten können.

Sollte aber andererseits durch die Elektronenstrahlung eine Ladungsverschiebung auf die Membranen zustande kommen, so müßten auch die dort auftretenden Potentialdifferenzen eine Änderung erfahren. Diese Frage zu entscheiden, ob nämlich die im lebenden Gewebe vorkommenden elektromotorischen Kräfte unter Bestrahlung verändert werden, war der Zweck der folgenden Versuche. Es lassen sich nämlich diese Potentiale als Potentialdifferenzen in übersichtlichen Modellen doch wenigstens in einiger Annäherung experimentell reproduzieren und zwar in Form der verschiedenen metallosen, stromgebenden Ketten

Dieser Weg der Untersuchung schien auch aus folgendem Grunde aussichtsreich. Die Ladungsänderung einer Membran müßte auch durch Änderung der Adsorption oder dergleichen eine Änderung der Permeabilität zur Folge haben. Daß aber wirklich Durchlässigkeitsänderungen von Membranen vorkommen, dafür haben wir Anhaltspunkte; 1. ist es *Holthusen* (11) gelungen, durch sehr hohe Strahlendosen die in Agar suspendierten Erythrocyten zu hämolysieren; 2. hat *E. A. Schmidt* (12) sowie *Ellinger* und *Landsberg* (13), *Cramer* (14) eine Veränderung der Aufnahmefähigkeit lebender Zellen für Vitalfarbstoffe beobachtet; 3. haben *Straub* und *Meyer* (15) gefunden, daß sich die Unstetigkeit in der CO_2-Bindungskurve der Erythrocyten bei Bestrahlung verschiebt. Daraus schließen die beiden Autoren auf eine Entladung der Phasengrenze. 4. *Lieber* (16) (17) (18) (19) hat in verschiedenen Arbeiten gezeigt, daß sich die Verteilung der K und Ca in der Haut der Ratte nach Bestrahlung grundsätzlich und entgegengesetzt ändert. Daraus schließt er ebenfalls auf eine Veränderung der Zellpermeabilität und glaubt, daß der Schwerpunkt der Röntgenstrahlenwirkung auf einer Verschiebung der Donnangleichgewichte liege. 5. Beim Morbus Basedowi ist die Leitfähigkeit der Haut erhöht. Es ist möglich, daß der Grund für diese Erscheinung in einer erhöhten Durchlässigkeit der Zellmembranen für Ionen zu suchen ist. Wir wissen aber andererseits, daß die Basedowhaut äußerst röntgensensibel ist. Es wäre denkbar, daß für das Zustandekommen bestimmter Erscheinungen (Erythem) eine bestimmte Permeabilitätserhöhung nötig wäre. Diese Erhöhung würde bei der Zelle der Basedowhaut deshalb durch Bestrahlung eher erreicht sein, weil deren Membran schon eine vorher erhöhte Permeabilität aufweist.

In Anbetracht dieser Tatsachen habe ich versucht, eine eventuelle Durchlässigkeitsänderung direkt nachzuweisen. Die Wände der Spirogyren sind für Strychninnitrat durchlässig. Dringt das Alkaloid in die Zelle ein, so bildet es mit den Gerbsäuren des Zellsaftes gerbsaure Salze, die als braune Körner ausfallen und im Mikroskop deutlich sichtbar werden. Die Bildung dieser Körner beginnt erst bei einer bestimmten Konzentration. Diese Grenzkonzentration läßt sich ziemlich genau festlegen. Würde nun durch Bestrahlung die Wand der Spirogyrazelle die Durchlässigkeit für Strychnin ändern, so müßte dies in einer Verschiebung der Grenzkonzentration oder einer Änderung des zeitlichen Auftretens der Tannatkörner zum Ausdruck kommen. Aber weder das eine noch das andere wurde gegenüber den unbestrahlten Kontrollen irgendwie verändert gefunden.

Es wurden auch diesbezügliche Versuche an isolierten Froschsartorien ausgeführt. Ich nahm die Gewichtskurve von bestrahlten und nicht bestrahlten Sartorien, die in iso-, hypo- und hypertonischer NaCl-Lösung lagen, auf. Durch die Bestrahlung ist die Geschwindigkeit der Wasseraufnahme oder -abgabe nicht verändert worden. Es ist jedoch wohl denkbar, daß eventuelle Ausschläge im Fehlerbereich der Ablesung dieser Versuche gelegen wären und deshalb nicht hätten wahrgenommen werden können.

Nach diesem kleinen Exkurs möchte ich zurückkommen auf die Untersuchungen der elektrischen Verhältnisse.

Ich habe eingangs hervorgehoben, daß die Röntgenstrahlenwirkung vorerst relativ homogen verteilt sein kann, und ich glaube, daß dies für die β-Strahlenemission noch zutrifft. Jedenfalls ist sie es in bezug auf die Zelle als Ganzes. Denn es ist anzunehmen, daß im ganzen Bereich der Zelle Elektronen emittiert werden. Und zwar müssen dieselben sowohl an Zahl (Intensität) als auch an Geschwindigkeit (Qualität, Härte) überall ungefähr gleich sein, weil ja diese beiden Größen neben der Qualität und Intensität der Primärstrahlung, die überall im Bereiche der Zelle gleich ist, nur von der Ordnungszahl der sie emittierenden Atome abhängig ist.

Zum überwiegend größten Teil besteht aber das Gewebe aus H, C, O, deren Z mit 1, 6, 8 nahe beieinander liegen. 7 N, 15 P, sowie 11 Na, 12 Mg, 16 S, 17 Cl, 19 K, 20 Ca und 26 Fe kommen praktisch für diese Betrachtung nicht in Frage, weil ihre Konzentration in der Zelle zu gering ist. Daneben ist zu bemerken, daß diese höher geordneten Elemente wohl ebenfalls homogen in der Zelle verteilt sind.

Nun ist es aber, wie gesagt, denkbar, daß die gleichmäßig verteilten freien Elektronen an bestimmten Stellen aus irgend einem Grunde zu einer für das Leben der Zelle besonders bedeutungsvollen Wirkung kommen. Z. B. dadurch, daß sie an diesen Stellen eine Ladungsänderung herbeiführen. Jede lokalisierte Ladungsänderung hat wohl aber eine Änderung der dort vorkommenden Potentiale zur Folge. Die in der lebenden Zelle möglichen Potentiale sind aller Wahrscheinlichkeit nach: 1. Diffusionspotentiale, 2. Phasengrenzpotentiale, 3. Membranpotentiale, 4. Adsorptionspotentiale; sicher sind es keine 5. Elektrodenpotentiale.

Ich habe deshalb Modelle dieser Potentiale den Röntgenstrahlen ausgesetzt und ihre Größe vor, während und nach der Bestrahlung verfolgt.

Die Potentialdifferenzen sind in Kompensationsschaltung mit dem Kapillarelektrometer als Nullinstrument und einem Leclanchéelement als Arbeitsstromquelle gemessen worden. Als Vergleichs-EMK diente ein Weston-Normalelement mit 1018 mV Klemmenspannung. Die Ableitung der Kettenpotentiale wurde in der von *Michaelis* und *Fujita* (20) angegebenen Weise, mittels KCl-Agarhebern bewerkstelligt, und zwar auf zwei identische gesättigte KCl-Kalomelelektroden. Dieselben ergaben gegenüber der mit n/10 Standardacetat gefüllten H_2Pt-Elektrode bei 16° C Potentialdifferenzen von 513 bzw. 514 mV. Die Fehlergrenzen der Kompensationsschaltung schwankten je nach Widerstand der Kette zwischen $\pm$ 0,15 und $\pm$ 0,3 mV. Die Fehler der Elektroden und Leitungen fielen in ein und demselben Versuch außer Betracht. Dennoch wurde an jedem Versuchstage die Spannung der gegeneinander geschalteten Elektroden gemessen und konstant zu 1 mV (514—513) gefunden. Als Strahlenquelle diente eine mit der Gaiffe-Apparatur betriebene Glühkathodenröhre. Die Röhrenspannung von 200 kV, die Belastung von 4 mA, die Fokusobjektdistanz von 38 cm, die Feldgröße von 60 : 80 mm, sowie die Filterung von 0,5 mm Al wurde während allen Versuchen konstant gehalten. Unter diesen Bedingungen erreichten wir die Oberflächendosis einer H. E. D. in 18 Minuten.

Versuchsresultate.

In jeder Versuchsgruppe sind mehrere Versuche ausgeführt worden. Da kein einziger abweichend ausgefallen ist, gebe ich von jeder Gruppe nur ein Protokoll mit der dazugehörigen Potentialkurve. Zwei benachbarte Pfeile in der Kurve, zwischen denen die Bezeichnung Rö. steht, geben Anfang und Ende einer Bestrahlung an. Entsprechende Bezeichnungen mit R. s. r. bedeuten Kontrollversuch: die Röhre ist in Betrieb, aber der primäre Strahlenkegel ist durch dickes Bleiblech abgeblendet.

1. Diffusionskette.

(Freie Diffusion in Wasser, m/500 HCl gegen konz. HCl.)

Werden in einem, in bezug auf Zusammensetzung inhomogenen Elektrolyten zwei räumlich auseinander gelegene Punkte zu einem Elektrometer abgeleitet, so zeigt sich zwischen diesen Punkten eine Potentialdifferenz. Die Verschiedenartigkeit der Zusammensetzung kann entweder bedingt sein durch verschiedene Konzentration ein und desselben Elektrolyten oder durch verschiedene Elektrolyte in gleicher oder verschiedener Konzentration. Ich habe eine einfache HCl-Diffusionskette untersucht. Ein beiderseits offener Glaszylinder ist in eine Schicht von gesättigtem KCl-Agar, die den Boden eines Becherglases belegt, mit einem Ende eingegossen. Auf den KCl-Agarboden wird in den Glaszylinder konzentrierte HCl gegeben und darauf

vorsichtig m/500 HCl aufgeschichtet. Oben wird die verdünnte HCl in der gegebenen Weise direkt abgeleitet. Unten aber wird die Ableitung der konzentrierten HCl über den KCl-Agarboden und der darübergeschichteten gesättigten KCl-Lösung bewerkstelligt.

Die EMK dieser Kette ist gegeben durch die *Nernst*sche Formel:

$$\pi = \frac{u - v}{u + v} \cdot \frac{R \cdot T}{F} \ln \frac{c_1}{c_2} \quad (\textit{Nernst}\ 21,\ 22,\ 23).$$

Für unseren Fall sollte $\pi = 134$ mV sein. Da dieser Wert nur bei idealer Berührung der beiden Konzentrationen erreicht werden kann — dies ist bis dahin am besten in den Versuchsanordnungen von *Fujita* (24) und *Lamb* und *Larson* (25) möglich —, so ist es nicht verwunderlich, wenn die gemessenen EMK zu klein sind. Die Diffusion tritt ziemlich rasch ein, so daß eine absinkende Spannungskurve resultiert.

Es sei die unregelmäßigste Kurve, die ich in dieser Versuchsgruppe aufgenommen habe, mit dem dazugehörigen Protokoll gegeben. Eine Beeinflussung derselben durch die Röntgenstrahlen konnte nicht festgestellt werden.

Datum	Zeit	mV	Bemerkungen	Datum	Zeit	mV	Bemerkungen
28. IX.	17h30′	66,0		28. IX.	17h48′	56,0	
	31	65,2			49	55,8	
	32	64,2			50	54,5	
	33	63,3			51	54,2	
	35	62,5			52	54,2	Rö.
	36	61,2	Rö.		53	54,0	
	37	60,5			54	53,2	
	39	59,2			55	52,8	ex
	41	58,5	ex		56	52,3	
	42	58,4			57	51,6	
	43	57,2			58	51,1	
	43,5	57,0			59	50,8	
	44	57,2	Rö.		18 00	50,4	
	45	57,1					
	46	56,4					
	47	55,8	ex				

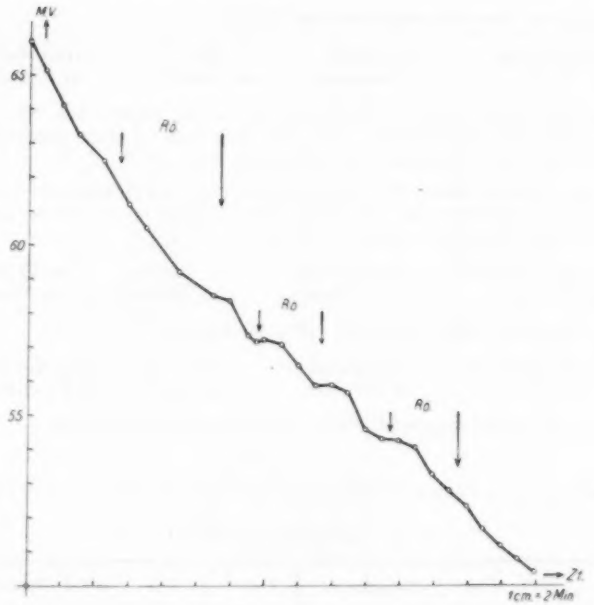


Abb. 1.

11. Ölketten.

An den Grenzen zweier Phasen entsteht im allgemeinen eine Potentialdifferenz. Diese ist bedingt durch die Verteilung der gelösten Elektrolyte in den beiden Lösungsmitteln [*Nernst* (l. c.), *Haber* (26), *Haber* und *Klemensiewicz* (27), *Beutner* (28)]. Ich habe NaCl gegen Dimethylanilin-HCl bzw. Na-Oleat sowohl in Guajakol als auch in o-Toluidin untersucht.

Einerseits NaCl, andererseits Dimethylanilin-HCl wird mit Guajakol bis zur endgültigen Verteilung ausgeschüttelt und vorsichtig in ein U-Rohr eingetragen. Auf den Dimethylanilin-HCl-Schenkel wird wässerige m/10 Dimethylanilin-HCl-Lösung, auf den Chloridschenkel wässerige m/10 NaCl-Lösung aufgeschichtet. Diese Kette enthält Cl-Ionen durchgehend. Es ist eine für Cl-Ionen reversible Kette, die durch das Schema:

−	m/10 Dim. An. HCl in Wasser	Dim. An. HCl in Guajakol	NaCl in Guajakol	m/10 NaCl in Wasser	+

dargestellt wird. Da im Dimethylanilin-HCl-Schenkel die Konzentration der negativ geladenen Cl-Ionen bedeutend größer ist als im anderen, wird derselbe zum negativen Pol der Kette.

Bauen wir eine Kette auf von der Form:

+	m/10 Na-Oleat in Wasser	Na-Oleat in Guajakol	NaCl in Guajakol	m/10 NaCl in Wasser	−

so haben wir darin eine für Na-Ionen reversible Kette, das Na-Ion ist durchgehend. Im Oleatschenkel befinden sich mehr positiv geladene Na-Ionen, so daß dieser Schenkel zum positiven Pol wird.

Guajakol ist ein saures Öl. Verwenden wir statt des Guajakols o-Toluidin, das basischen Charakter hat, zur Anlegung der Ölkette, so kehren sich die Pole um. Die Cl-Ionen reversible Kette:

+	m/10 Dim. An. HCl in Wasser	Dim. An. HCl in Toluidin	NaCl in Toluidin	m/10 NaCl in Wasser	−

hat also negativen NaCl-Schenkel. Die Na-Oleatkette:

−	m/10 Na-Oleat in Wasser	Na-Oleat in Toluidin	NaCl in Toluidin	m/10 NaCl in Wasser	+

gibt, mit o-Toluidin angesetzt, einen positiven Chloridschenkel.

A. NaCl gegen Dimethylanilin-HCl (Cl-Ionen reversibel).

1. In Guajakol (saures Öl).

Datum	Zeit	mV	Bemerkungen	Datum	Zeit	mV	Bemerkungen
28. VIII.	14h35′	84,7		28. VIII.	16h04′	85,0	
	50	84,8			10	85,0	
	55	84,7			30	85,4	
	15 15	84,6			36		Rö.
	20		Rö.		38	86,8	
	24	86,2			42	86,8	
	28	86,5			45	86,9	ex
	31	86,5					
	35	86,5	ex		50	85,6	
					54	85,5	
	40	84,8			17 05	85,5	
	45	84,8					
	50	84,9			08	85,3	Rö. sine rad.
					13	85,4	ex
	55	85,0	Rö. sine rad.				
	57	85,2			15	85,3	
	16 00	85,2	ex		25	85,6	

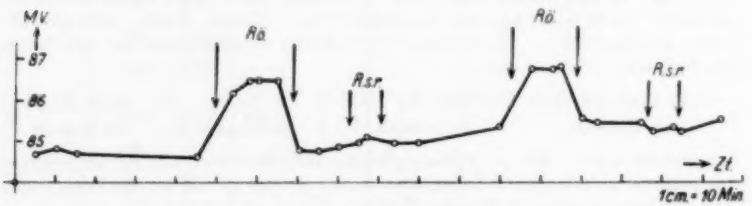


Abb. 2.

2. In o-Toluidin (basisches Öl).

Datum	Zeit	mV	Bemerkungen	Datum	Zeit	mV	Bemerkungen
1. IX.	—	31		2. IX.	15h38′	52,9	Rö. sine rad.
					40	52,9	ex
2. IX.	15h08′	53,8					
	17	53,5			41	52,7	
	19	53,2			45	52,6	
	21	54,3	Rö.		48	54,0	Rö.
	24	54,7			50	54,5	
	28	56,0			52	54,0	ex
	32	55,5					
	33	55,7			54	51,8	
	35		ex		58	51,7	
	35	52,8					
	36	52,8					

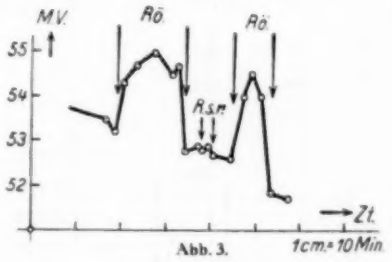


Abb. 3.

B. NaCl gegen Na-Oleat (Na-Ionen reversibel).

1. In Guajakol (saures Öl).

Datum	Zeit	mV	Bemerkungen	Datum	Zeit	mV	Bemerkungen
7. X.	14h59′	89,8		7. X.	15h25′	88,8	
	15 05	89,3			30	88,7	
	07	89,3			31	90,5	Rö.
	12	89,1			33	90,6	
	13	90,0	Rö.		36	90,4	
	15	90,8			43	90,2	ex
	17	90,7					
	20	90,5			44	88,8	
	22	90,4	ex		46	88,5	
	23	89,1			50	88,4	
					16 05	88,2	

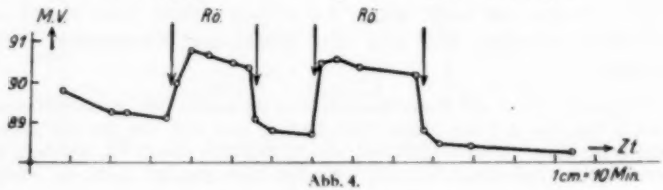


Abb. 4.

2. In o-Toluidin (basisches Öl).

Datum	Zeit	mV	Bemerkungen
18. IX.	16h40′	109,8	
	45	114,5	
	50	113,0	
	55	113,1	
	56	113,3	Rö.
	58	115,5	
	17 00	116,1	
	03	116,5	
	04	116,8	ex
	06	114,0	
	09	114,1	
	11	114,1	

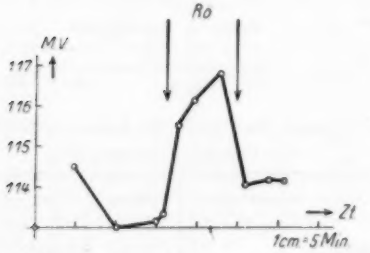


Abb. 5.

Wie ersichtlich, zeigt sich eine Erhöhung der EMK durchgehend.

III. Konzentrationsketten.

Wenn zwei wässerige Phasen mit verschiedenen Konzentrationen ein und desselben Elektrolyten durch eine Ölschicht getrennt werden, so stellt diese Anordnung wieder eine Kette dar, deren EMK zwischen Null und dem Werte der *Nernst*schen Formel schwankt.

Größe und Sinn der Potentialdifferenz ist neben den Konzentrationen abhängig von der Art des öligen Mittelleiters und von der Art des gemeinschaftlichen Ions. *Cremer* (29) hat als Mittelleiter nicht Öl, sondern eine äußerst dünne Glaswand benutzt. Es hat sich gezeigt, daß, da offenbar

Glas H- und OH-Ionen gebunden enthält, diese Anordnung eine für H-Ionen reversible Kette darstellt. Sie ist eine Wasserstoffionenkonzentrationskette.

Ein Reagenzglas wird zu einem äußerst dünnwandigen Ballon ausgeblasen. In den Ballon habe ich m/500 HCl gegeben und denselben in m/500 NaOH getaucht. Diese

A. *Cremer*sche Glaskette

gibt eine Spannung von etwa 0,5 Volt. Aus dem folgenden Protokoll mit dazugehöriger Kurve ist die Beeinflussung dieser Spannung ersichtlich:

Datum	Zeit	mV	Bemerkungen	Datum	Zeit	mV	Bemerkungen
30. IX.	14h25'	336,2		30. IX.	15h39'	339,5	Rö.
	40	336,0			40	340,0	
	50	336,1			43	340,2	
	15 00	336,2			48	340,2	
	08	336,0			53	340,0	ex
	10	338,5	Rö.		54	337,5	
	13	340,0			56	336,2	
	16	339,8			00	336,0	
	20	340,0	ex		16 06	336,2	
	21	336,5			07	336,3	Rö. sine rad.
	22	336,0			08	336,5	
	25	336,2			10	336,3	ex
	38	336,0			17	336,2	
					22	336,3	

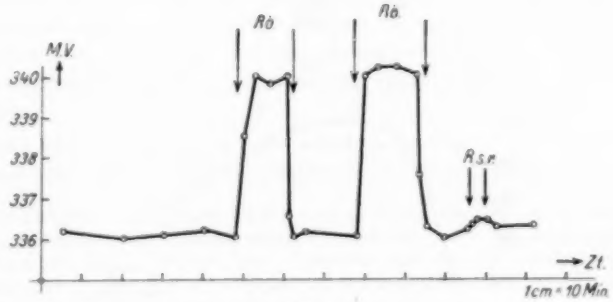


Abb. 6.

B. Ferrocyankupfermembran.

Gießen wir in ein beiderseits offenes Glasrohr m/40 $K_4Fe(CN)_6$-Lösung, der 10proz. Gelatine zugesetzt ist, und tauchen wir diesen Zylinder in m/20 $CuSO_4$-Lösung, so bildet sich an der Berührungsstelle des gelatinierten Ferrocyankaliums mit dem Kupfersulfat eine Ferrocyankupfermembran. Leiten wir aus Kupfersulfat direkt und aus $K_4Fe(CN)_6$-Gelatine vermittelst überschichteter gesättigter KCl-Lösung zur Kompensationsschaltung ab, so messen wir im Scheitelpunkt der Spannungskurve eine EMK von 125 bis 136 mV. Der positive Pol ist das Kupfersulfat.

Die Entstehung dieser EMK ist auf folgende Weise erklärlich. *Beutner* (l. c.) hat nachweisen können, daß die $Cu_2Fe(CN)_6$-Membran nur für Kationen, also auch für Kalium durchlässig ist. Auf der $K_4Fe(CN)_6$-seite besteht eine hohe K-Ionenkonzentration. Aber auch im Kupfersulfat befinden sich K-Ionen, allerdings in bedeutend geringerer Menge, nämlich nur so viel, als dem Umsatz:

$$K_4Fe(CN)_6 + 2\,CuSO_4 = Cu_2Fe(CN)_6 + 2\,K_2SO_4$$

entspricht. Diese Kette ist für Kaliumionen reversibel.

Ich gebe eine Kurve mit Protokoll, die, wie ersichtlich, durch Röntgenbestrahlung unbeeinflußt blieb.

Datum	Zeit	mV	Bemerkungen
3. IX.	17h07′	—	Ansetzen
	14	129,0	
	17	130,2	
	20	131,2	
	25	131,2	
	27	131,0	
	29	131,0	Rö.
	31	130,6	
	34	130,1	
	36	129,8	ex
	37	129,3	
	43	128,5	
	50	125,5	

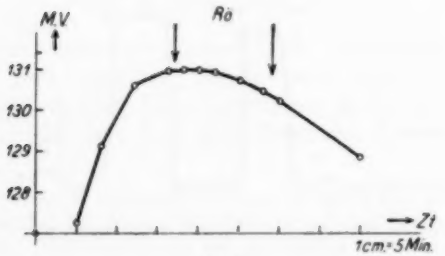


Abb. 7.

IV. Kollodiummembran (Donnangleichgewicht).

Eine auf übliche Weise hergestellte, nicht ausgetrocknete Kollodiumhülse wurde innen mit 1proz. Gelatine + m/2000 HCl beschickt, in eine m/2000 HCl-Lösung getaucht und von beiden Seiten zum Elektrometer abgeleitet. Dabei tritt eine Spannung von 15 bis 16 mV auf. Ich gebe Protokoll und Kurve eines solchen Versuchs wieder.

Datum	Zeit	mV	Bemerkungen
15. IX.	16h00'	15,6	
	05	15,1	
	07	15,1	
	08	15,2	Rö.
	10	15,2	
	13	15,3	
	15	15,2	
	18	15,1	
	23	15,1	
	24	15,0	
	36	14,9	ex
	37	14,9	
	48	14,5	

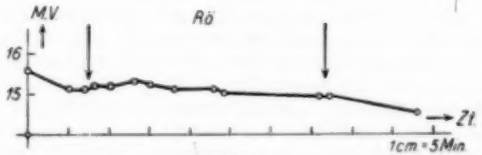


Abb. 8.

Auch hier bleiben die Ausschläge bei der Bestrahlung aus.

Kurz zusammengefaßt, ergab sich also eine Änderung der Potentialdifferenz bei den Ölketten und der *Cremer*schen Glaskette; sie blieb aus bei der freien Diffusion in Wasser, der Ferrocyankupfermembran, der nicht ausgetrockneten Kollodiummembran.

Die Potentialerhöhung tritt sofort nach Beginn der Bestrahlung ein und wird sofort nach der Sistierung derselben rückgängig.

Eine sichere Erklärung dieser meiner Resultate ist heute schwer zu geben. Und dennoch will ich einen Versuch machen. Es ist zu erklären: 1. warum im Falle der Öl- und Glaskette eine Beeinflussung der EMK eintritt, und 2. warum das Potential bei freier Diffusion, bei der Ferrocyankupfer- und Kollodiummembran nicht geändert wird.

Die Größe der Spannung einer Diffusionskette ist theoretisch gegeben durch die *Nernst*sche Formel:

$$\pi = \frac{u-v}{u+v} \cdot \frac{R.T}{F} \cdot \ln \frac{c_1}{c_2}.$$

Wird die Kette bestrahlt $(+ v . h)$ und ändert sich dabei die EMK, so kann dies nur durch Änderung von u und v geschehen, denn R, T, F = const. Ebenso wird c_1 und c_2 nach den Untersuchungen von *Janitzki* (30) nicht beeinflußt. Derselbe konnte zeigen, daß die Leitfähigkeit bei Bestrahlung sich nicht ändert. Es ist also:

$$\pi = f(u, v).$$

Es ist nun leicht einzusehen, daß durch Ladungsänderungen einer Membran, z. B. durch Entladung durch freie Elektronen, eine Beeinflussung der Ionenbeweglichkeiten u und v zustande kommt. Und zwar in dem Sinne, daß die Anionen gehemmt und die Kationen beschleunigt würden. Ähnlich wie eine Gitterladung im Elektronenrohr den Elektronenstrom steuert. Warum tritt aber dieser Effekt das eine Mal auf, das andere Mal nicht?

Möglicherweise spielt hierbei die Dielektrizitätskonstante eine gewisse Rolle [*Hafner* (31)]. Aber *Leonor Michaelis* (32) referiert im dritten Heft der Naturwissenschaften 1926 eine Reihe von Arbeiten, die er zusammen mit *Fujita* (20) (33) (34) (35) und *Tokan* ausgeführt hatte. Er gibt zum Schluß eine allgemeine Theorie der Membranpermeabilität, die geeignet ist, meine Befunde zu erklären, und die kurz folgendes besagt:

Membranen sind Siebe. Verschiedene Membransiebe haben verschieden große Poren. Für die Permeabilität einer Membran kommt aber nicht nur die Porenweite oder besser gesagt das Verhältnis derselben zum Teilchendurchmesser der permeierenden Stoffe in Betracht, sondern auch die elektrischen Verhältnisse der Membran, ihre Ladung. Diese letztere ist nur für elektrisch geladene Teilchen von Bedeutung, für die Ionen. Die Ladung der Membran — ganz ungeachtet wie dieselbe zustande kommt — hat einen um so größeren Einfluß auf die diffundierenden Ionen, je kleiner die Poren sind. Und zwar deshalb, weil offenbar nur die wandständigen Teilchen elektrostatisch beeinflußt werden. Es gibt nun Membranen, die sich durch Elektrolyte umladen lassen. *Michaelis* konnte an Hand von potentiometrischen Beobachtungen nachweisen, daß durch diese Umladung nicht nur die absolute Größe der Ionenwanderungsgeschwindigkeiten, sondern auch das relative Verhältnis von u und v beeinflußt wird. Dadurch erhält die Membran einen gegenüber dem Potential bei freier Diffusion im allgemeinen positivierenden Effekt auf die EMK. Diese Wirkung ist aus obigem Grunde um so größer, je kleiner die Membranporen sind. Warum sollte nun nicht auch eine Umladung durch Elektronen den gleichsinnigen und ähnlich von der Porengröße abhängigen Effekt haben.

Dies scheint denn auch nach meinen Versuchen der Fall zu sein, denn *Michaelis* konnte weiter zeigen, daß die Ferrocyankupfer- und die nicht ausgetrocknete Kollodiummembran weite Poren haben. Bei ihnen tritt gegenüber der freien Diffusion in Wasser ein geringer positivierender Effekt auf. Aber eben diese beiden Membranen haben auch bei meiner Versuchsanordnung keinen Ausschlag gegeben. Dagegen gibt das Glas Membranen mit sehr feinen Poren. Dies stimmt mit meinen Befunden

überein; ich habe an den Glasketten die größten Ausschläge beobachtet (bis 5,5 mV).

Die Ölketten möchte ich deshalb hier aus der Diskussion weglassen, weil sie von *Michaelis* noch nicht studiert worden sind. Jedoch scheint auch hier ein ähnlicher Mechanismus wirksam zu sein.

Wie die Kurven der Versuchsreihe 1 und 2 zeigen, sind die Veränderungen der EMK, wie ich sie dort durch Röntgenbestrahlung erhalten habe, *zeitlich* mit der Bestrahlung *identisch*. Ich bin mir deshalb wohl bewußt, daß dieselben nicht den einzigen und letzten Grund all der verschiedenartigen *bleibenden* Veränderungen, die die Röntgenstrahlen im lebenden Gewebe setzen, darstellen. Dennoch glaube ich, daß meine Befunde nicht nur für das Verständnis der biologischen Strahlenwirkungen, sondern auch für die Theorie der Membranen und der stromgebenden Ketten von einiger Bedeutung sein dürften.

Die von *Lieber* und anderen geäußerste Ansicht, daß die Röntgenstrahlenwirkung vornehmlich in einer Beeinflussung der Permeabilität der Zellmembran besteht, wird durch obige Untersuchungen experimentell gestützt.

Literatur.

1) *Liechti*, Klin. Wochenschr. **19**, 825, 1924. — 2) *Holthusen*, Fortschr. d. Röntgenstrahlung **33**, 62, 1925, Kongreßheft. — 3) *Liechti*, Klin. Wochenschr., März 1926. — 4) *Bordier*, Strahlenther. **2**, 368, 1913. — 5) *Fernau* und *Pauli*, diese Zeitschr. **70**, 1915. — 6) *Wels*, Pflügers Arch. **199**, 226, 1923. — 7) *Loeb*, Naturwiss. 1924, S. 213. — 8) *Pauli*, Klin. Wochenschr. **1**, 1, 1924. — 9) *Chick* und *Martin*, Kolloidchem. Beihefte **5**, 49, 1923. — 10) *Schaudinn*, Pflügers Arch. **77**, 29, 1899. — 11) *Holthusen*, Strahlenther. **14**, 561, 1922. — 12) *Schmidt*, ebendaselbst **12**, 517, 1921. — 13) *Ellinger* und *Landsberg*, Klin. Wochenschr. 1923. — 14) *Cramer*, Klin. Wochenschr. 1926, 190. — 15) *Straub* und *Meyer*, diese Zeitschr. **139**, 302, 1923. — 16) *Lieber*, Wien. klin. Wochenschr. **39**, 197, 1924. — 17) *Derselbe*, Zeitschr. f. Krebsforsch. **21**, 1924. — 18) *Derselbe*, Strahlenther. **20**, 1925. — 19) *Derselbe*, Fortschr. d. Röntgenstr. **33**, 73, 1925, Kongreßheft. — 20) *Michaelis* und *Fujita*, Zeitschr. f. phys. Chem. **110**, 266, 1924. — 21) *Nernst*, ebendaselbst **4**, 129, 1889. — 22) *Derselbe*, ebendaselbst **2**, 611, 1888. — 23) *Derselbe*, ebendaselbst **9**, 140, 1892. — 24) *Fujita*, diese Zeitschr. **159**, 370, 1925. — 25) *Lamb* und *Larson*, Journ. of the Amer. Chem. Soc. **42**, 229, 1920. — 26) *Haber*, Ann. d. Phys. **26**, 927, 1908. — 27) *Haber* und *Clemensievicz*, Zeitschr. f. phys. Chem. **67**, 385, 1909. — 28) *Beutner*, Die Entstehung elektrischer Ströme im lebenden Gewebe. Stuttgart 1920. — 29) *Cremer*, Zeitschr. f. Biol. **47**, 1, 1906. — 30) *Janitzki*, Zeitschr. f. Physik **20**, 280, 1923. — 31) *Hafner*, Ergebn. d. Physiol. **24**, 566, 1925. — 32) *Michaelis*, Naturwiss. **3**, 1926. — 33) *Fujita*, diese Zeitschr. **158**, 11, 1925. — 34) *Michaelis* und *Fujita*, ebendaselbst **158**, 28, 1925. — 35) *Dieselben*, ebendaselbst **161**, 47, 1925. — 36) *Michaelis*, Die Wasserstoffionenkonzentration, 2. Aufl. Berlin 1922. — 37) *Derselbe*, Praktikum der physikalischen Chemie. Berlin 1922. — 38) *Höber*, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe, 5. Aufl. Leipzig 1922. — 39) *Bechhold*, Kolloide in Biologie und Medizin. Steinkopf 1919. — 40) *Zsigmondy*, Kolloidchemie. Leipzig 1925. — 41) *Meyer*, Lehrb. d. Strahlenther. **3**. Wien 1925.

Über das Verhalten des p-Xylochinons zu Hefe.

Von

Carl Neuberg und **Ernst Simon.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Die drei Verbindungen der Vierkohlenstoffreihe *Diacetyl*, *Acetoin* und *2, 3-Butylenglykol* sind chemisch und physiologisch miteinander verknüpft: $CH_3 . CO . CO . CH_3 \leftarrow CH_3 . CHOH . CO . CH_3 \rightarrow CH_3 . CHOH . CHOH . CH_3$. Das Acetoin liefert durch Oxydation leicht Diacetyl und durch Reduktion β, γ-Dioxybutan. Das Diacetyl ist weiterhin dadurch ausgezeichnet, daß es einen markanten Übergang in die aromatische Reihe vermittelt. Es wird nämlich, wie *M. v. Pechmann*[1]) entdeckt hat, schon durch verdünntes Alkali unschwer zu *p-Xylochinon* kondensiert; dabei tritt als Zwischenprodukt[2]) das *Diacetyl-aldol* auf:

$$\begin{array}{l} CH_3 . CO . CO . CH_3 \\ + \\ CH_3 . CO . CO . CH_3 \end{array} \rightarrow \begin{array}{l} CH_3 . CO . C(OH) . CH_3 \\ | \\ CH_2 . CO . CO . CH_2 \end{array}$$

$$\rightarrow \begin{array}{l} CH . CO . C . CH_3 \\ \| \quad\quad \| \\ CH_3 . C . CO . CH \end{array}$$

Ferner haben *O. Diels* und *H. Jost*[3]) die interessante Beobachtung mitgeteilt, das ein *trimeres*, durch verdünnte Mineralsäure wieder zum monomolekularen Grundkörper aufspaltbares Diacetyl, $(CH_3 . CO . CO . CH)_3$, bei der Behandlung mit Natriumamalgam *p-Xylohydrochinon* liefert.

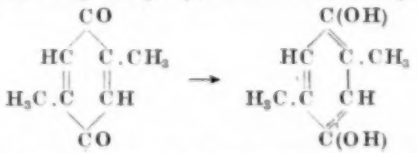
Nachdem sich gezeigt hatte, daß unerwarteterweise Hefe unter den allerverschiedensten Bedingungen befähigt ist, aus Zucker und

[1]) *M. v. Pechmann*, Ber. **21**, 1418, 1888.
[2]) *M. v. Pechmann* und *E. Wedekind*, Ber. **28**, 1845, 1895.
[3]) *O. Diels* und *H. Jost*, Ber. **35**, 3290, 1902.

Acetaldehyd[1]) bzw. aus Brenztraubensäure und Acetaldehyd[2]) oder auch unter Beteiligung der Oxalessigsäure[3]) Acetoin und Butylenglykol zu bilden, haben wir einige Versuche darüber für wünschenswert gehalten, ob eine Rückverwandlung des zyklischen p-Xylochinons bzw. p-Xylohydrochinons in Körper der Butylenreihe möglich wäre.

Fügt man zu einer gärenden Zuckerlösung eine alkoholische Lösung von *p-Xylochinon*, so entfärbt sich, wenn das Xylochinon in kleinen Anteilen eingetragen wird, die gelbliche Flüssigkeit schnell. Beläßt man nach dem Eintragen allen Xylochinons die Mischung 2 Tage im Brutschrank, so nimmt die Flüssigkeit allmählich eine dunkelbraune Färbung an. Der Geruch nach p-Xylochinon ist verschwunden. Destilliert man nach dieser Zeit einen aliquoten Teil ab, so findet man in ihm kein Acetoin und kein Diacetyl vor, wohl aber *Acetaldehyd*. Dieser tritt im Vergleich mit entsprechenden normalen Gäransätzen in so verstärkter Menge auf, daß seine Bildung mit der Umwandlung des p-Xylochinons in unzweifelhaftem Zusammenhang stehen mußte. Der Acetaldehyd konnte entweder dem Chinon entstammen oder ein Oxydationsäquivalent für die Entstehung eines Reduktionsprodukts aus dem zugegebenen Xylochinon sein. Es handelt sich in der Tat um eine Reduktion des p-Xylochinons zum entsprechenden Hydrochinon. Aus dem durch Zentrifugieren vom Hefeschlamm getrennten Gärgut gewinnt man durch direktes Ausäthern das *p-Xylohydrochinon* in mehr als 90proz. Ausbeute.

Diese Umwandlung des p-Xylochinons in das Hydrochinon



ist ganz analog der von uns früher ausgeführten phytochemischen Reduktion nicht ringförmiger Diketone, z. B. des Diacetyls und Benzils[4]).

Daß diese Hydrierung mit dem Gärakt verknüpft ist und nicht durch reduzierende Faktoren der Hefeleibessubstanz bewirkt wird, ergibt sich, außer durch die bereits erwähnte verstärkte Erzeugung von

[1]) *C. Neuberg* und *E. Reinfurth*, diese Zeitschr. **143**, 553, 1923; *C. Neuberg*, Die deutsche Zuckerindustrie **49**, 1054, 1924; *C. Neuberg* und *E. Simon*, diese Zeitschr. **156**, 364, 1925; *C. Neuberg* und *M. Kobel*, ebendaselbst **160**, 250, 1925; *A. J. Kluyver, H. J. L. Donkers* und *F. Visser t' Hooft*, ebendaselbst **161**, 375, 1925; *L. Elion*, ebendaselbst **169**, 471, 1926.

[2]) *J. Hirsch*, diese Zeitschr. **131**, 178, 1922; *C. Neuberg* und *A. v. May*, ebendaselbst **140**, 299, 1923; *C. Neuberg* und *O. Rosenthal*, Ber. **57**, 1436, 1924.

[3]) *C. Neuberg* und *G. Gorr*, diese Zeitschr. **154**, 495, 1924; Ergebn. d. Physiol. **24**, 191, 1925.

[4]) *C. Neuberg* und *F. F. Nord*, Ber. **52**, 2248, 1919.

Acetaldehyd, aus dem Verhalten, das p-Xylochinon in Berührung mit abgekochter Hefe und Invertzuckerlösung zeigt. Bringt man p-Xylochinon, in Alkohol gelöst, mit einer Aufschwemmung von abgekochter Hefe in Wasser zusammen, wobei das schwerlösliche p-Xylochinon in feinster Verteilung wieder ausfällt, so nimmt der Gehalt an zyklischem Diketon bei längerem Stehen ab. Man kann nämlich aus dem 48 Stunden hindurch bei 37° digerierten Gemische das mit Wasserdampf leicht und quantitativ sich verflüchtigende p-Xylochinon nur rund zur Hälfte noch regenerieren. Vom zugehörigen p-Xylohydrochinon sind dabei lediglich Spuren nachzuweisen.

Daß ein erheblicher Teil des Chinons verschwindet, ohne in Hydrochinon umgewandelt zu werden, und dabei in undefinierte Produkte übergeht, beruht wohl auf einer Reaktion des Chinons mit den stickstoffhaltigen Bestandteilen der Hefezellen. *E. Fischer* und *H. Schrader*[1]) haben gezeigt, daß Chinon mit Aminosäure-estern zu Kondensationsprodukten zusammentritt; *L. Meunier* und *A. Seyewetz*[2]) haben dasselbe hinsichtlich einer Reaktion von Chinon mit genuinem Eiweiß angegeben. Ferner muß man sich der Möglichkeit einer Reaktion zwischen Aminosäuren und Chinonen erinnern, deren Entdeckung man *W. Traube*[3]) verdankt, wenngleich die typische Umsetzung [siehe Kontrollen a) und b)] im vorliegenden Falle nicht in Frage kommt.

Belege.

a). 100 g Rohrzucker wurden in 1 Liter Leitungswasser gelöst und noch 40° warm mit 100 g gut abgepreßter Unterhefe (Schultheiss-Patzenhofer) zur Angärung gebracht. Darauf erfolgte anteilweise die Zugabe von 2,5 g p-Xylochinon, die in heißem reinen Alkohol gelöst waren. Der Zusatz wurde derart geregelt, daß die Gärung nie in Stillstand geriet; es trat jeweils nur eine Schwächung der Kohlensäureentwicklung sowie geringe Verfärbung auf, die jedoch bald wieder zurückging. Am nächsten Tage wurden nochmals 50 g Zucker in 500 ccm Wasser sowie 50 g Hefe zugesetzt und nach dem Eintreten lebhafter Gärung die restliche Xylochinonlösung nachgegeben. Das Gärgemisch, das im Thermostaten bei 37° aufbewahrt worden war, wies nunmehr eine dunkle, bräunliche Färbung auf. Eine abzentrifugierte Probe zeigte nur noch minimale Linksdrehung; der Zucker war demnach praktisch vergoren, so daß zur Aufarbeitung geschritten werden konnte. Das Gesamtvolumen des Gärguts betrug 2000 ccm. Nach Entfernung des Hefeschlamms durch Zentrifugieren wurde die Flüssigkeit mehrere Male ausgeäthert. Die ätherischen Auszüge wurden mit Knochenkohle behandelt und filtriert. Der Äther wurde verdampft und der Rückstand in ein Kristallisierschälchen übergeführt, das bis zur völligen Trocknung im Vakuumexsikkator belassen wurde. Die letzten Spuren Feuchtigkeit wurden über

[1]) *E. Fischer* und *H. Schrader*, Ber. **43**, 525, 1910.

[2]) *L. Meunier* und *A. Seyewetz*, Chem. Centralbl. **1914**, II, 672; vgl. ferner *G. T. Morgan* und *E. A. Cooper*, ebendaselbst **1925**, I, 1215; *S. Hilpert*, diese Zeitschr. **166**, 80, 1925.

[3]) *W. Traube*, Ber. **44**, 3146, 1911.

Phosphorpentoxyd entfernt. Die noch etwas braun gefärbte Kristallmasse wog 2,1230 g, was einer Rohausbeute von 84,9 Proz., auf Xylochinon berechnet, gleich kommt.

Zur völligen Reindarstellung wurde das Produkt in heißem Wasser gelöst, unter Einleiten von Kohlensäure sowie Zusatz von etwas Knochenkohle zum Sieden gebracht und filtriert. Beim Erkalten schied sich das p-Xylohydrochinon in rein weißen, filzigen Nädelchen ab, die auf der Nutsche abgesaugt, mit kaltem Wasser gewaschen und in vacuo getrocknet wurden. Die Kristalle zeigten den Schmelzpunkt 212°, der in der Literatur[1]) für das auf rein chemischem Wege gewonnene Produkt angegeben ist. Für die intermediäre Bildung von Chinhydron, das ja auch aus den Komponenten in vitro nicht entsteht[2]), waren keine Anzeichen vorhanden.

b). In einem anderen, unter gleichen Bedingungen ausgeführten Versuch wurden 93,3 Proz. des p-Xylochinons in das Hydroderivat umgewandelt. Das Vorliegen dieser Substanz wurde ferner durch die Elementaranalyse erwiesen:

0,1658 g Substanz: 0,4207 g CO_2; 0,1122 g H_2O.
$C_8H_{10}O_2$. Ber.: C = 69,55 Proz.; H = 7,25 Proz.
Gef.: C = 69,20 „ ; H = 7,52 „ .

Das *p-Xylohydrochinon* besaß folgende Eigenschaften: Versetzte man die wässerige Lösung der Substanz mit Eisenchlorid und erhitzte zum Sieden, so trat der charakteristische, stechende Chinongeruch auf. In gleicher Weise wirkte Kaliumbichromat. Die Reoxydation des Hydrochinons wurde auch quantitativ ermittelt: 0,5 g Hydrochinon (1 Mol) wurden mit 1,17 g $FeCl_3$ (2 Mol) versetzt und der Wasserdampfdestillation unterworfen. Die Oxydation erfolgte augenblicklich: das entstehende Xylochinon ging sofort über und kristallisierte in goldgelben Kristallen zum Teil bereits im Kühlrohr aus. Die abgesaugten und getrockneten Kristalle schmolzen bei 125°. Ausbeute 0,488 g.

c). Die erhöhte Produktion von *Acetaldehyd* wurde in folgender Weise festgestellt:

Zu einer mit 50 g Hefe versetzten Lösung von 50 g Zucker in 500 ccm Wasser wurden 1,3 g in Alkohol gelösten p-Xylochinons gegeben. Am nächsten Tage wurden nochmals 25 g Zucker in 250 ccm Wasser und 25 g Hefe hinzugetan. Nach der Ausgärung wurde das bei 37° aufbewahrt gewesene und nunmehr chinonfrei gewordene Gemisch der Wasserdampfdestillation unterworfen und anreichernd destilliert. Die Prüfung auf Acetoin verlief negativ. Die Bestimmung des Acetaldehyds wurde nach *Ripper* titrimetrisch vorgenommen. Gefunden wurden 70,2 mg Aldehyd, während der in gleicher Weise ohne Xylochinon angesetzte Kontrollversuch 20,7 mg Aldehyd lieferte.

Kontrollen.

a). 100 g Hefe wurden mit 500 ccm Wasser 1 Stunde lang gekocht. Gleichzeitig wurden 100 g Rohrzucker in 300 ccm Wasser gelöst und durch halbstündiges Erwärmen mit 10 ccm n/10 Schwefelsäure auf dem Wasserbade invertiert. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung mit 10 ccm n/10 Natronlauge neutralisiert und mit der Hefensuspension vereinigt. Darauf wurden 1,5392 g Xylochinon hinzugesetzt und das Gemisch sofort mit

[1]) *B. Heymann* und *W. Koenigs*, Ber. **20**, 2396, 1887.
[2]) *R. Nietzki*, Ann. **215**, 170, 1882.

Wasserdampf destilliert. Die Hauptmenge des Chinons kristallisierte in der Vorlage aus; aus der ausgeätherten überstehenden Lösung wurde nach dem Verdampfen des Äthers ebenfalls reines Xylochinon erhalten. Zurückgewonnen: 0,7422 g. Der Rückstand der Wasserdampfdestillation wurde zentrifugiert und darauf mit Äther ausgezogen. Nach Verdunsten des Lösungsmittels hinterblieb ein minimaler Rückstand, der kein Hydrochinon enthielt.

b). Einer auf dieselbe Art angesetzten Kontrollmischung wurden 2,0049 g Xylochinon zugefügt; das Gemenge wurde 48 Stunden bei 37° digeriert. Zurückgewonnen: 1,0623 g. Im Rückstand ließ sich eine geringe Menge Hydrochinon feststellen.

c). Eine alkoholische Lösung von 2,5 g p-Xylochinon wurde mit 800 ccm Wasser zusammengebracht, wobei das Xylochinon wieder ausfiel, und 2 Tage im Thermostaten bei 37° aufbewahrt. Die Aufarbeitung geschah folgendermaßen: Vom ungelösten Chinon wurde abfiltriert und die Flüssigkeit zur Entfernung gelösten Chinons mit Wasserdampf behandelt. Die restierende Lösung wurde in üblicher Weise ausgeäthert. Nach Abdunsten des Äthers hinterblieb eine spärliche Menge einer öligen Flüssigkeit; Hydrochinon war nicht zu isolieren.

Der Brauerei *Schultheiß-Patzenhofer* in Berlin sind wir für reichliche Belieferung mit Hefe zu besonderem Dank verpflichtet.

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses. Seite

Keller, Heinrich. Wirkung von Ammoniumsalzen und Strahlen auf Hefe. I. Mitteilung: Versuche über die Grundlage des Arndt-Schulzschen Gesetzes 45

Verworn, Arthur I. Der Mechanismus der Ionenwirkung 78

Akschin, B. W. Die aktuelle Reaktion des Gewebesaftes bei normaler und beschleunigter Metamorphose von Rana temporaria 79

Lewer, M. J. Die Beeinflussung der Saponinbildung der Eremitlieber durch homologe Alkohole. III. 93

Rona, P. und W. Deutsch. Untersuchungen über Cholesterin- und Lecithinsuspensionen 99

Löwe, H. Eine neue gebrauchsfertige Apparatur zur elektrometrischen Messung der Wasserstoffionenkonzentration 119

Lepeschkin, W. W. Über die chemische Zusammensetzung der lebenden Materie 126

Bruhns, J. Über die Ausscheidung von intravenös eingeführtem Calcium 140

Reiner, Sa., F. Fränkl und B. Hämpl. Studien der Hirudinsuspensionskoagulation in Tropfen. VIII. Mitteilung: Unterschiede in der Koagulation des reinen und Blutserums des Pferdes, Rindes, Schweines und Hundes 156

Krimberg, R. und S. A. Rumjanew. Weitere Untersuchungen über den Einfluß der sogenannten Chromolabilisation des Fleischextraktes auf die Sekretion der Magendrüsen 169

Hirsch, G. Über die Veränderung der Blutbeschaffenheit schwerer Diabetiker nach länger dauernder Insulinwirkung 177

Kaminski, Gabor. Reflektometrische Studien über den Abbau Steiler Organproteine 181

Siegmund, H. Über feinporige Filter und neue Ultrafilter 189

Wolf, Hilde. Über das Verhalten des Harnquotienten C : N bei der Adrenalinglykosurie 204

— — Über Veränderungen des Harnquotienten C : N im menschlichen alkalischen Harn infolge von Harnstoffzufuhren 210

Steenberg, Hanni Mai. Zum Nachweis des Bilirubins 217

Wolf, Hilde. Über die Beeinflussung des Harnquotienten C : N durch Insulin beim normalen Kaninchen 218

Wein, K. v. und M. Bleile. Über Fettsäuregehalt und Cholesteringehalt im Blutserum bei Lactation 223

Feis, Sigfrid. Über die Oxydation der Cumidine durch Jodsäure in wässeriger Lösung 231

Vaubel, Adolf. Zur Berechnung von bioelektrischen Potentialdifferenzen durch die Röntgenstrahlen 240

Carl Neuberg und Ernst Simon. Über das Verhalten des p-Xylochinons zu Hefe 250

Verlag von Julius Springer in Berlin W 9

Handbuch der Physik

Unter redaktioneller Mitwirkung von

R. Grammel-Stuttgart, E. Hanning-Berlin, H. Konen-Bonn, H. Thirring-Wien, F. Trendelenburg-Berlin, W. Westphal-Berlin

Herausgegeben von

H. Geiger und Karl Scheel

Kiel — Berlin-Dahlem

Das Handbuch der Physik bietet eine vollständige Darstellung der gesamten Gebiete der experimentellen und theoretischen Physik. Durch zusammenfassende Behandlung des gesamten Stoffes auf die in der einzelnen Sonderdarstellung wichtigen Momente wird eine möglichst moderne und kritische Darstellung der Physik ohne schematisierende Bevorzugung der einzelnen erstrebt.

Das Werk umfaßt insgesamt 24 Bände zu je etwa 35 Bogen Umfang

Jeder Band ist einzeln käuflich

Vor kurzem erschien:

Zehnter Band

Thermische Eigenschaften der Stoffe

Redigiert von F. Henning

649 Seiten mit 207 Abbildungen. 1926

RM 51.—; gebunden RM 57.50

Inhaltsübersicht: Band X des Werkes. Von Prof. Dr. E. Grüneisen-Charlottenburg, Greifswald und Prof. Dr. E. Goens-Greifswald. Theorie der spezifischen und latenten Wärme. Von Prof. Dr. A. Eucken-Breslau. Thermodynamik der Gemische. Von Prof. Dr. Th. Bedard-Amsterdam. Kapillarität, innere Reibung und Diffusion. Von Prof. Dr. F. Henning-Berlin. Thermische Ausdehnung. Von Prof. Dr. E. Grüneisen-Charlottenburg, Greifswald und Prof. Dr. E. Goens-Greifswald. Die Zustandsgleichungen. Von Dr. R. Plank-Stuttgart. Thermodynamik der Kristalle. Von Prof. Dr. C. Dieterici-Leipzig.

Alle früher erschienenen Bände: Band VIII, XVIII, XI und IX

Die weiteren Bände erscheinen:

Bd. I—III.	Mathematische Hilfsmittel der Physik.	Bd. XIII—XIV.	Elektrizität und Magnetismus.
Bd. IV.	Grundlagen der Optik.	Bd. XV.	Wellenoptik.
Bd. V—VII.	Allgemeine Mechanik. Statik und Dynamik fester Körper. Mechanik der flüssigen und gasförmigen Körper.	Bd. XVI.	Geometrische Optik.
Bd. XVII.	Elektronen.
Bd. XIX—XXIII.	Allgemeine Grundlagen der Physik. Aufbau der Materie.
Bd. XXIV.	Geschichte der Physik.

Ausführliche Prospekte kostenlos durch jede Buchhandlung

Verlag von Julius Springer in Berlin W 9